



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SINALOA
FACULTAD DE MEDICINA
MAESTRÍA EN CIENCIAS EN BIOMEDICINA MOLECULAR

“Análisis de los polimorfismos del gen del receptor de productos finales de glicación avanzada (AGER) y su asociación con niveles circulantes de AGEs y sRAGE en pacientes con retinopatía diabética del noroeste de México”

TESIS

QUE PRESENTA

LIC. JAVIER EDUARDO BORBOLLA ARRIAGA

COMO REQUISITO PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRO EN CIENCIAS EN BIOMEDICINA MOLECULAR

DIRECTORES DE TESIS

DRA. ALMA MARLENE GUADRÓN LLANOS

DR. JOSÉ CANDELARIO BATIZ BELTRÁN

COMITÉ TUTORIAL

DR. EMILIANO TERÁN BOBADILLA

MC. JOSUÉ CAMBEROS BARRAZA

DR. ADOLFO DANIEL RODRÍGUEZ CARRIZALES

Culiacán de Rosales, Sinaloa, México a Enero de 2025.



Dirección General de Bibliotecas
Ciudad Universitaria
Av. de las Américas y Blvd. Universitarios
C. P. 80010 Culiacán, Sinaloa, México.
Tel. (667) 713 78 32 y 712 50 57
dgbuas@uas.edu.mx

UAS-Dirección General de Bibliotecas

Repositorio Institucional Buelna

Restricciones de uso

Todo el material contenido en la presente tesis está protegido por la Ley Federal de Derechos de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

Queda prohibido la reproducción parcial o total de esta tesis. El uso de imágenes, tablas, gráficas, texto y demás material que sea objeto de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente correctamente mencionando al o los autores del presente estudio empírico. Cualquier uso distinto, como el lucro, reproducción, edición o modificación sin autorización expresa de quienes gozan de la propiedad intelectual, será perseguido y sancionado por el Instituto Nacional de Derechos de Autor.

Esta obra está bajo una Licencia Creative Commons Atribución-No Comercial
Compartir Igual, 4.0 Internacional



Este trabajo fue realizado en el Laboratorio de Diabetes y Comorbilidades perteneciente al Centro de Investigación Aplicada en Salud Pública (CIASAP) en el programa de Maestría en Ciencias en Biomedicina Molecular de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Sinaloa, bajo la dirección de la Dra. Alma Marlene Guadrón Llanos y el Dr. José Candelario Batiz Beltrán, contando con la asesoría del Dr. Emiliano Terán Bobadilla, MC. Josué Camberos Barraza y el Dr. Adolfo Daniel Rodríguez Carrizales. Contó con financiamiento de Proyecto Fronteras perteneciente a CONAHCYT con código **CF-2023-I-2843**. El Lic. Javier Eduardo Borbolla Arriaga recibió beca para posgrados nacionales de CONAHCYT. Además, se contó con el apoyo del Instituto de Seguridad y Servicios Sociales de los Trabajadores del Estado (ISSSTE) y el Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional (CINVESTAV) Unidad Zacatenco.

DEDICATORIA

*A mi Madre, Padre y Hermana...
Son ustedes la luz de mi vida.*

AGRADECIMIENTOS

Agradezco al **Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías (CONAHCYT)** por la beca otorgada durante el desarrollo de este posgrado, pues esta fue indispensable para adecuar las condiciones de mi formación. Al programa de la **Maestría en Ciencias en Biomedicina Molecular** de la **Facultad de Medicina** de la **Universidad Autónoma de Sinaloa**, por darme la oportunidad de formar parte de este equipo de investigación y trabajo. Del mismo modo, agradezco a cada uno de los docentes del programa de la Maestría en Ciencias en Biomedicina Molecular por su apasionada forma de transmitir sus conocimientos a lo largo del programa.

A mi directora de tesis, la **Dra. Alma Marlene Guadrón Llanos**, por confiar en mí para aceptarme en su grupo de trabajo. Por siempre mostrar una calidez y apertura para compartir sus conocimientos y sabiduría. Por su paciencia, disponibilidad, entrega y nobleza para cada una de las actividades que este trabajo o su servidor requirieron. Gracias por tanta confianza y tanto cariño, son emociones que llevaré conmigo el resto de mi vida.

A mi director de tesis, el **Dr. José Candelario Bátiz Beltrán** por su apoyo, confianza y gran trato que me brindó al momento de atender dudas y cuestionamientos.

A mis asesores de tesis **Dr. Emiliano Terán Bobadilla, MC. Josué Camberos Barraza** y el **Dr. Adolfo Daniel Rodríguez Carrizales**, por su valioso aporte en la conformación y mejoramiento de este trabajo. Gracias por su tiempo y paciencia.

A la **Dra. Carla Ernestina Angulo Rojo**, por su inconmensurable pasión por todos y cada uno de sus estudiantes, su invaluable apoyo tanto en lo práctico como en lo emocional. Por generar el ambiente más propicio para el aprendizaje y el sano esparcimiento de todos los integrantes del grupo de trabajo. Por su incansable amor por la docencia y su infinita sencillez

como ser humano. Gracias por tantísimo, Dra. Carla, su papel y la de la Dra. Alma fueron pilares indispensables en el éxito de cada uno de nosotros estudiantes. Citando a Winston Churchill: *“Nunca tantos debieron tanto a tan pocos”*. Simplemente gracias.

A mi **madre Ruth**, mi **padre Jesús Javier** y mi hermana **Anahí**, por su amor y apoyo incondicional hacia todas y cada una de mis decisiones, tropiezos y victorias. Por estar más que presentes en cada paso que he dado y que daré el resto de mi vida. Por ser simplemente lo que más atesoro en mi existencia y por quienes trabajo cada día con el propósito de ser digno de merecerlos. Gracias por sus enseñanzas y su interminable amor. Cada triunfo que viviré será suyo por naturaleza, los llevo a dondequiera que voy.

A mi novia **Paola** por su cariño, paciencia, empatía y su invaluable amor a lo largo de este complejo proceso. Gracias por ser mi mejor amiga y mi incansable acompañante, por creer en mí sin importar la condición y por la inmensa confianza que depositas en todas mis acciones. Gracias por tanto, te debo mucha de la paz que disfruto cada uno de mis días.

A **Cristian**, mi mejor amigo quien sin importar el horario y el lugar me ha acompañado en cada uno de los retos que he experimentado. Por sus enseñanzas, su confianza y su calidez. Por ser el mejor compañero que pudiese imaginar.

A mis grandes amigos **Yolanda**, **Arsenio** y **Adalberto**. Por su valiosa compañía, su amistad incondicional y su apoyo que nunca parece terminarse, gracias por volver ameno cada espacio que roza con su presencia.

A mis amigos del posgrado **Adrián**, **Andrea**, **Marco**, **Cinthia** e **Itzel**, quienes fueron parte fundamental de mi aliento y mi ánimo para desarrollar este proceso. Estoy seguro de que existían muchas maneras de vivir esta maestría pero fueron ustedes quienes la volvieron más grata, divertida y entrañable. Gracias por permitirme ser su amigo.

A los integrantes y amigos que conforman este increíble equipo de trabajo de los laboratorios de Neurociencias, Diabetes y Nutrición. Gracias a **Diana, Alexis, Manuel, Radamés, Nahomi, Adolfo, Tasuko, Laura, Thania y Carolina**. Gracias por sus enseñanzas, apoyo, paciencia y sencillez para llenar de gratitud el ambiente en el que se nos concedió coincidir.

A todas las personas que facilitaron la realización de este proyecto, a las y los **pasantes de servicio social de Medicina**, a los **residentes de oftalmología del Hospital Regional "Dr. Manuel Cárdenas de la Vega" del ISSSTE**, al **Dr. Lucio Torres** por su valioso apoyo en el muestreo de la población de estudio. Gracias a todos los individuos que aceptaron participar en el estudio y aportar a la ciencia, son ustedes quienes posibilitan la comprensión de todas las enfermedades que intentamos comprender en nuestros proyectos.

ÍNDICE

	Página
ÍNDICE DE FIGURAS	12
ÍNDICE DE TABLAS O CUADROS.....	13
I. RESUMEN (Español)	1
II. INTRODUCCIÓN.....	3
III. REVISIÓN DE LA LITERATURA.....	6
3.1. Diabetes Mellitus.....	6
3.1.1. Epidemiología	7
3.1.2. Diabetes mellitus tipo 2.....	10
3.1.3. Sintomatología	10
3.1.4. Bases Moleculares (fisiopatología).....	10
3.1.4.1. Fisiología de las Células β	10
3.1.4.2. Disfunción de Células β	14
3.1.4.3. Resistencia a la insulina.....	17
3.1.5. Factores de Riesgo	18
3.1.6. Diagnóstico y tratamiento	19
3.1.7. Complicaciones de la DM.....	20
3.1.7.1. Complicaciones agudas	20
3.1.7.2. Complicaciones crónicas	21
3.2. Retinopatía diabética	24
3.2.1. Anatomía del ojo humano	24
3.2.1.1. Capa Fibrosa.....	24
3.2.1.2. Capa Vasculard.....	26
3.2.1.3. Capa Nerviosa	27
3.2.2. Retinopatía Diabética	29
3.2.2.1. Clasificación	29

3.2.2.2.	Complicaciones de la RD	34
3.2.2.3.	Diagnóstico	34
3.3.	Productos Finales de Glicación Avanzada (AGEs).....	35
3.3.1.	Relación de AGEs con Diabetes	38
3.4.	Receptor de los Productos Finales de Glicación Avanzada (AGER).....	40
3.5.	Vía AGE-AGER.....	44
3.5.1.	Efectos Patológicos de la Activación de la Vía AGE-AGER	44
3.5.1.1.	Efectos de AGEs sobre la degeneración macular asociada a la edad (DMAE)	
	45	
3.6.	Gen AGER y sus polimorfismos	48
Rs1800624	50
Rs1800625	50
Rs2070600	52
3.7.	Antecedentes	53
3.7.1.	Papel del receptor AGER en la retinopatía diabética (RD).....	53
3.7.2.	Polimorfismos del gen AGER en RD	54
rs1800625	54
rs1800624	56
rs2070600	57
3.7.3.	Niveles de AGEs y sRAGE circulantes en RD	58
IV.	JUSTIFICACIÓN.....	61
V.	HIPÓTESIS	62
VI.	OBJETIVOS.....	63
1.1.	Objetivo general	63
1.2.	Objetivos específicos.....	63
VII.	MATERIALES Y MÉTODOS	64
7.1.	Tipo de Estudio	64

7.2. Población de Estudio	64
7.3. Criterios de Selección.....	65
Criterios de Inclusión	65
1. Grupo control	65
2. Grupo de casos	65
Criterios de Exclusión	65
1. Grupo control	65
2. Grupo de casos	65
Criterios de Eliminación	66
7.4. Diseño experimental.....	66
7.4.1. Extracción de ADN genómico	67
7.4.2. Integridad del ADN.....	67
7.4.3. Dilución de ADN y q-PCR.....	67
7.4.4. Cuantificación de Niveles de AGES y sRAGE.....	68
Cuantificación de AGES séricos	68
ELISA (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay) para cuantificación de sRAGE.....	69
7.4.5. Análisis Estadístico	70
VIII. RESULTADOS	72
8.1. Población de estudio.....	72
8.2. Caracterización antropométrica.....	73
8.3. Caracterización bioquímica.....	75
8.4. Determinación de frecuencias genotípicas del gen AGER en los grupos de estudio..	77
9.4.1 Distribución alélica y genotípica de polimorfismos del gen AGER	77
9.4.2 Análisis de asociación de los polimorfismos de AGER con RD	83
8.5. Cuantificación de AGEs y sRAGE en los grupos de estudio.....	87
8.6. Análisis de correlación	91
8.7. Análisis de regresión logística múltiple	96
IX. DISCUSIÓN.....	98
X. CONCLUSIONES.....	111

10.1. Conclusión general.....	111
10.2. Conclusiones específicas.....	111
XI. PERSPECTIVAS DEL PROYECTO	113
XII. BIBLIOGRAFÍA.....	114
XIII. SIGLAS Y ABREVIACIONES.....	123
XIV. ANEXOS.....	127
11.1. Documentos complementarios.....	127

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Tasa de Mortalidad por DM por entidad federativa.....	9
Figura 2. Fisiología de células β	13
Figura 3. Disfunción de células β	16
Figura 4. Mecanismos de la disfunción endotelial inducida por diabetes.	23
Figura 5. Estructura del globo ocular humano.	28
Figura 6. Grados de severidad de Retinopatía Diabética.....	33
Figura 7. Vías de formación de AGEs.....	36
Figura 8. Isoformas del receptor AGER y su estructura.....	43
Figura 9. La interacción AGE-AGER	46
Figura 10. Patogénesis celular y molecular de la activación del eje AGE-AGER.....	47
Figura 11. Representación del transcrito predominante del gen AGER humano con los principales polimorfismos estudiados.	49
Figura 12. Análisis de concentraciones de los niveles de AGEs fluorescentes y sRAGE entre los subgrupos AJ.	89
Figura 13. Análisis de concentraciones de los niveles de AGEs fluorescentes y sRAGE entre los subgrupos AM.	90

ÍNDICE DE TABLAS O CUADROS

Tabla 1. Grados de severidad de la RD	32
Cuadro 1. Características generales de los grupos AJ y AM.....	72
Cuadro 2. Datos antropométricos de los subgrupos AJ CTRL, AJ DMT2 y AJ RD.	73
Cuadro 3. Datos antropométricos de los subgrupos AM CTRL, AM DMT2 y AM RD	74
Cuadro 4. Valores de caracterización bioquímica subgrupos AJ	75
Cuadro 5. Valores de caracterización bioquímica subgrupos AM.....	76
Cuadro 6. Distribución alélica y genotípica de rs1800624 en los subgrupos No RD y RD.....	78
Cuadro 7. Distribución alélica y genotípica de rs1800625 en los subgrupos No RD y RD.....	80
Cuadro 8. Distribución alélica y genotípica de rs2070600 en los subgrupos No RD y RD.....	82
Cuadro 9. Modelos de herencia para análisis de asociación de genotipos de rs1800624 con RD.	84
Cuadro 10. Modelos de herencia para análisis de asociación de genotipos de rs1800625 con RD.	85
Cuadro 11. Modelos de herencia para análisis de asociación de genotipos de rs2070600 con RD.	86
Cuadro 12. Análisis de correlación entre los niveles circulantes de AGEs fluorescentes y las variables antropométricas y bioquímicas de los subgrupos AJ.....	92
Cuadro 13. Análisis de correlación entre los niveles circulantes de AGEs fluorescentes y las variables antropométricas y bioquímicas de los subgrupos AM.....	93
Cuadro 14. Análisis de correlación entre los niveles circulantes de sRAGE y las variables antropométricas y bioquímicas de los subgrupos AJ.....	94

Cuadro 15. Análisis de correlación entre los niveles circulantes de sRAGE y las variables antropométricas y bioquímicas de los subgrupos AM.....95

Cuadro 16. Modelo de regresión logística múltiple.97

I. RESUMEN (Español)

Justificación: La DMT2 es una de las enfermedades crónicas más prevalentes y altamente relevantes en materia de salud pública a nivel global gracias al intrincado paquete de patologías derivadas. En el continente americano se estima que aproximadamente 62 millones de personas cursan con este trastorno metabólico. Una de las principales complicaciones derivadas de la DMT2 es la retinopatía diabética (RD), patología definida como una serie de alteraciones en la microvasculatura ocular originadas por un estado hiperglucémico crónico, el cual conlleva a un daño permanente de la visión cuando no es controlada. El punto de inflexión para el manejo oportuno de la RD es un diagnóstico temprano pues la efectividad del tratamiento radica en su administración en fases iniciales de la enfermedad. Debido a lo anterior, y considerando que la DMT2 es una enfermedad poligénica, es importante ahondar en la fisiopatología de esta al estudiar alteraciones en rutas centrales del metabolismo de los carbohidratos, como es el caso de la vía AGE-AGER. Estudiar su gen (AGER) y sus moléculas principales (AGEs y sRAGE), auxiliarían a la comprensión fisiopatológica de la RD, revelando potenciales blancos terapéuticos.

Objetivo: Identificar la presencia de los polimorfismos rs1800624, rs1800625 y rs2070600 del gen AGER y su asociación con el desarrollo y progresión de retinopatía diabética en pacientes con DMT2 en población adulta del noroeste de México.

Resultados: El genotipo heterocigoto mutado del polimorfismo rs1800625 mostró una asociación significativa con la presencia de RD en la población estudiada; rs1800624 y rs2070600 no mostraron asociación con la RD. Los niveles de sRAGE presentaron aumento en sujetos control lo que podría sugerir un efecto protector ante la activación de la vía AGE-AGER.

(Palabras clave: *Diabetes mellitus 2, Retinopatía diabética, AGER*)

ABSTRACT (Resumen en inglés)

Justification: T2DM is one of the most prevalent and highly relevant chronic diseases in terms of public health at a global level thanks to the intricate package of derived pathologies. In the American continent, it is estimated that approximately 62 million people suffer from this metabolic disorder. One of the main complications derived from T2DM is diabetic retinopathy (DR), a pathology defined as a series of alterations in the ocular microvasculature caused by a chronic hyperglycemic state, which leads to permanent vision damage when left unattended. The turning point for the timely management of DR is an early diagnosis since the effectiveness of the treatment lies in its administration in the initial stages of the disease. Due to the above, and considering that T2DM is a polygenic disease, it is important to delve into its pathophysiology by studying alterations in central carbohydrate metabolism pathways, such as the AGE-AGER pathway. Studying its gene (AGER) and its main molecules (AGEs and sRAGE) would help in the pathophysiological understanding of DR, revealing potential therapeutic targets.

Objective: Identify the presence of polymorphisms rs1800624, rs1800625 and rs2070600 of the AGER gene and their association with the development of diabetic retinopathy in patients with DM2 in the adult population of northwestern Mexico.

Results: The heterozygous mutated genotype of the rs1800625 polymorphism showed a significant association with the presence of DR in the studied population; rs1800624 and rs2070600 did not show an association with DR. sRAGE levels were increased in control subjects, which could suggest a protective effect against the activation of the AGE-AGER pathway.

(Keywords: Diabetes mellitus 2, Diabetic retinopathy, AGER)

II. INTRODUCCIÓN

La diabetes mellitus (DM) se define como una condición patológica en la que tienen lugar diversas alteraciones del metabolismo caracterizadas principalmente por un estado hiperglucémico crónico y deficiencias en el metabolismo de carbohidratos, lípidos y de proteínas, como resultado de defectos en la secreción y/o acción de la hormona insulina o afectando la capacidad catalítica de la misma (1). Según datos de la Organización Mundial de la Salud (OMS) se incrementó el número de individuos con diabetes de 108 millones en el año de 1980 a un estimado de 422 millones en el 2014. Se reportó un aumento del 5% en los niveles de mortalidad temprana por DM a nivel mundial entre los años 2000 y 2016. En el 2019, la DM se catalogó como la 6ta causa de muerte en América Latina (3). Respecto a cifras en México, durante el 2021 se reportó que un 13 % de las defunciones en el país fueron a causa de DM. De las defunciones mencionadas anteriormente, un 74.9% fueron por DM tipo 2 (5).

La diabetes mellitus tipo 2 (DMT2) es un trastorno metabólico caracterizado por una etiología altamente multifactorial, la cual involucra defectos moleculares muy heterogéneos como lo es una ineficaz producción de insulina por las células pancreáticas, una generación de resistencia gradual hacia la actividad de la insulina, así como fallas en la secreción de hormonas intestinales (incretinas). Todas estas alteraciones conducen a trastornos en el metabolismo de grasas y proteínas (6). El desarrollo de DMT2 es dependiente de una conjunción de factores variables que van desde la predisposición genética por mutaciones que favorezcan su fisiopatología, como el estilo de vida que lleve la persona afectada (19).

La retinopatía diabética es una condición caracterizada por la ruptura de la barrera hematorretiniana (BHR), pérdida de pericitos capilares y endotelio, formación de microaneurismas, disfunción neuronal/glial e isquemia progresiva en las primeras etapas (no

proliferativas) (26). La OMS reporta a la RD como la causa principal de ceguera global con un 4.8%, incrementando el porcentaje hasta un 7% en la región de Latinoamérica (27). En México, según datos de la Secretaría de Salud, al año 2018 esta complicación derivada de la DM tiene una prevalencia estimada de 31.5% (28).

Conocido como receptor de productos finales de glicación avanzada (AGER) es un receptor membranal capaz de reconocer múltiples ligandos, este es perteneciente a la superfamilia de las inmunoglobulinas. La activación de AGER, principalmente por los productos finales de glicación avanzada (AGEs por sus siglas en inglés), promueve un fenotipo característico de un contexto proinflamatorio y se ha reportado su implicación en el desarrollo de complicaciones derivadas de DM (41). Hasta la fecha han sido reportados aproximadamente 30 polimorfismos en las dimensiones del gen AGER. Los estudios realizados con respecto a las implicaciones que podrían tener estos polimorfismos destacan la promoción de un estado crónico inflamatorio y amplificación de la respuesta inflamatoria. Entre los polimorfismos más estudiados en contexto de diabetes mellitus tipo 2 y sus complicaciones se encuentran rs1800624, rs1800625 y rs2070600 (53).

Se han publicado diversos estudios en los que se buscó dilucidar el papel de la vía AGE-AGER en la progresión de la RD. McVicar et al. (87) en 2015 llevaron a cabo un estudio en ratones donde se buscó el definir concretamente qué función desempeñaba el receptor AGER en la patología vasodegenerativa de la retina en un contexto de diabetes. Concluyeron que los ratones diabéticos con el gen AGER suprimido poseían protección frente a lesiones retinales, especialmente aquellas relacionadas con las respuestas inflamatorias; entendiendo así que la inhibición de AGER podría ser una opción terapéutica para prevenir la RD. Por otra parte, Ramzi Amin et al. (88) en el 2017 publicaron un estudio donde se evaluó la repercusión que

tendría la inhibición del receptor AGER (mediante un anticuerpo) en la protección y mejora del desarrollo de RD. Los resultados obtenidos fueron una disminución significativa de los niveles de HbA1c en los grupos de ratones RD+anti-AGER en comparación con los ratones del grupo RD sin tratamiento ($p < 0.05$), así como un diámetro medio de los vasos sanguíneos menor en los grupos administrados con 10 y 100 ng/kg del anticuerpo ($p < 0.05$). También la administración de este, en esos mismos niveles, mostró la capacidad de reducir de forma significativa los niveles del factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF por sus siglas en inglés) en comparación al grupo control ($p < 0.05$).

En el año 2001 Hudson et al. (83) realizaron el primer estudio que buscó identificar la posible asociación entre polimorfismos y la retinopatía diabética. En este, el equipo británico utilizó muestras de sangre provenientes de pacientes diagnosticados con DMT2 en comparación con muestras de pacientes que padecían RD, obteniendo una n correspondiente a 215 (106 y 109, respectivamente para cada grupo), el grupo control estuvo conformado por 113 pacientes sin ninguno de los padecimientos de interés. Se encontró a rs1800625, polimorfismo localizado en la posición -429. Las frecuencias de cada genotipo llevaron a la conclusión de que el alelo C del polimorfismo -429 estaba relacionado con la retinopatía diabética en pacientes con DMT2.

III. REVISIÓN DE LA LITERATURA

3.1. Diabetes Mellitus

Se le nombra diabetes mellitus (DM) a la condición patológica en la que tienen lugar diversas alteraciones del metabolismo caracterizadas principalmente por un estado de hiperglucemia crónica y deficiencias en el metabolismo de carbohidratos, lípidos y de proteínas, derivado de una ineficaz secreción de la hormona insulina o una deficiencia catalítica de la misma. La DM suele manifestarse con sintomatología bastante característica la cual involucra sed constante, poliuria, pérdida de peso y trastornos visuales. Sin embargo, estos síntomas no son de carácter severo e incluso pueden pasar desapercibidos hasta un grado avanzado de la condición. Razón por la cual la hiperglucemia crónica es capaz de ocasionar daños fisiológicos por un largo periodo antes de que se realice un diagnóstico (1).

Existen 3 tipos principales de diabetes: Diabetes mellitus tipo 1 (DMT1), diabetes mellitus tipo 2 (DMT2) y diabetes gestacional; la DMT1 se caracteriza principalmente por una destrucción autoinmune de las células β , hecho que provoca un defecto total en la producción de insulina. La DMT2 se origina debido a una producción deficiente de insulina y la generación de resistencia hacia la misma. La diabetes gestacional se presenta en mujeres embarazadas sin diagnóstico previo de DM, desapareciendo por lo general una vez nace el bebé. Todos los tipos de diabetes presentan estados de hiperglucemia crónica y se relacionan con signos como la poliuria, polidipsia y polifagia. Las consecuencias agudas de un mantenimiento alterado de los niveles de azúcar en sangre son múltiples y de severidad variable, entre ellas podemos destacar la cetoacidosis y el coma hiperosmolar no cetósico. Como complicaciones de tipo crónico se pueden manifestar desde cardiopatías, retinopatías, neuropatías y nefropatías, todo producto de un control deficiente de la glucemia que se acompaña con la generación de procesos de estrés

oxidativo e inflamación. Teniendo esto en mente se puede decir que la DM conduce a desórdenes estructurales y fisiológicos a nivel celular, tisular y sistémico (2).

3.1.1. Epidemiología

Según datos de la Organización Mundial de la Salud (OMS) se incrementó el número de individuos con diabetes de 108 millones en el año de 1980 a un estimado de 422 millones en el 2014. Esta enfermedad ha incrementado su prevalencia de forma más rápida en países de medianos y bajos ingresos (3).

Se reportó un aumento del 5% en los niveles de mortalidad temprana por DM a nivel mundial entre los años 2000 y 2016. En el continente americano, esta enfermedad se coloca como la causa número 4 de muerte por enfermedades no transmisibles (ENT). En el 2019, la DM se catalogó como la 6ta causa de muerte en América Latina, calculándose un aproximado de 244,084 fallecimientos por DM. Del mismo modo, esta enfermedad está reportada como la 2da causa principal de años de vida ajustados por discapacidad, hecho que proyecta la severidad de las complicaciones que se manifiestan en las personas que viven con esta condición durante el transcurso de su vida (4).

De acuerdo con datos de la Federación Internacional de Diabetes (IDF) en el año 2019 la DM fue responsable de 4,2 millones de fallecimientos; además, estimó en 463 millones la cantidad de adultos con edades de entre 20 y 79 años que viven con diabetes, un número que se prevé crecerá a 700 millones en el año 2045. Los pacientes con DMT2 presentan un riesgo del 15% mayor en cuanto a mortalidad en comparación con individuos sin diabetes, siendo la enfermedad cardiovascular (ECV) la causa más prevalente de morbilidad y mortalidad en asociación con DMT2 (5).

Respecto a cifras en México, durante el 2021 se reportó que un 13 % de las defunciones en el país fueron a causa de DM (una cifra de 140 729 fallecimientos), según datos provenientes de Estadísticas de Defunciones Registradas; un 74.9% fueron por DMT2 (105, 395) y el 51% de los fallecimientos fueron personas del sexo masculino. La tasa de mortalidad por DM a nivel nacional fue de 11.0 por cada 10,000 habitantes (6). Por estado, Puebla fue la entidad federativa cuya tasa de mortalidad fue la más elevada (15.7), seguida de Veracruz con 15.6 y el estado de Tlaxcala con un 14.5. En el estado de Sinaloa se estimó una tasa de mortalidad de 5.8 defunciones por cada 10,000 habitantes (Figura 1) (6).

TASA DE MORTALIDAD POR DIABETES *MELLITUS*, 2021
(Defunciones por cada 10 mil habitantes)

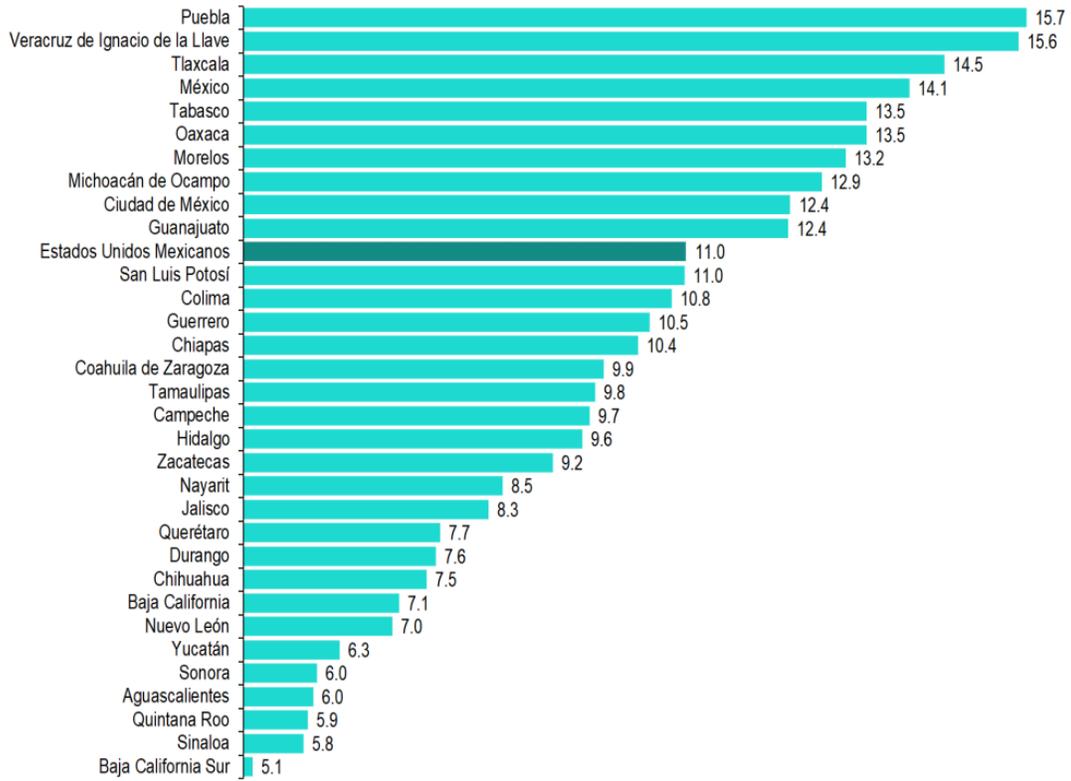


Figura 1. Tasa de Mortalidad por DM por entidad federativa, tomado de comunicado de prensa núm. 657/22. Datos nacionales de diabetes INEGI (6).

3.1.2. Diabetes mellitus tipo 2

La diabetes mellitus tipo 2 (DMT2) es un trastorno metabólico caracterizado por una etiología altamente multifactorial, la cual involucra defectos moleculares muy heterogéneos como lo es una ineficaz producción de insulina por las células pancreáticas, una generación de resistencia gradual hacia la actividad de la insulina, así como fallas en la secreción de hormonas intestinales (incretinas). Todas estas alteraciones conducen a trastornos en el metabolismo de grasas y proteínas. La DMT2 puede manifestarse en sobreposición con diabetes juvenil (ocasionada por mutaciones genéticas que afectan la fisiología de las células β), o bien asociarse con la presencia de infecciones, endocrinopatías o diabetes gestacional. La DMT2 figura como trastorno metabólico de natural evolución en síndrome de Down, síndrome de Turner y síndrome de Klinefelter (7).

3.1.3. Sintomatología

Respecto a las manifestaciones clínicas clásicas de la DMT2 se reportan la polidipsia, la poliuria y la polifagia, frecuentes en todos los tipos de DM, así como fatiga, visión borrosa y constante pérdida de peso. Como manifestaciones menos frecuentes se han reportado vaginitis y balanitis en mujeres y hombres, respectivamente. La glucosuria, ausencia de menstruación y el dolor abdominal figuran también como manifestaciones no clásicas (8).

3.1.4. Bases Moleculares (fisiopatología)

3.1.4.1. Fisiología de las Células β

La producción hormonal pancreática corre a cargo de las células β , sintetizando de forma primaria pre-proinsulina, proteína que mediante un proceso de maduración se modifica de forma conformacional en el retículo endoplasmático (RE) dando lugar a la proinsulina. Consecuentemente, la proinsulina se transporta del RE hasta el aparato de Golgi (AG), donde

tiene acceso mediante vesículas secretoras y posibilita la escisión del péptido C, liberándose hormona insulina. Posterior a este proceso de maduración la insulina se reserva en gránulos hasta que se recluta su secreción. Dicha secreción se realiza esencialmente por estados de hiperglucemia, sin embargo, existen otros factores que pueden desencadenar la secreción de esta hormona, como lo son la presencia de algunos aminoácidos, los niveles de ácidos grasos libres y la acción de otras hormonas (9).

Las células β reaccionan frente a los niveles altos de glucosa circulante principalmente por medio del transportador de glucosa 2 (GLUT-2), proteína de transporte que a la vez ejerce como sensor de glucosa para este grupo celular pancreático. Con el ingreso de la glucosa se inicia el catabolismo de esta, incrementando la relación ATP-ADP intracelular, acción que conduce al cierre de los canales de potasio dependientes de ATP ubicados en la membrana de las células. El cierre de estos canales desencadena una despolarización de la membrana plasmática y la consecuente apertura de los canales de calcio, los cuales son dependientes de voltaje, por lo que esta condición plasmática favorece el ingreso de Ca^{+2} a la célula. El incremento en concentración de calcio intracelular induce al cebado y la fusión de los gránulos secretores de almacenaje de la insulina, desencadenando la excreción de la misma (9, 10).

Sin embargo, este no es el único mecanismo capaz de inducir la exocitosis de insulina, existen otras señales que pueden incluso auxiliar a su excreción mejorando la liberación. Entre estas señales se contempla el adenosín monofosfato cíclico (AMPC), posible mensajero de mayor importancia en el proceso de potenciación de exocitosis de insulina. La evidencia reporta que el AMPC genera la movilización de las vesículas encargadas del almacenaje y secreción de la insulina mediante el desabastecimiento de reservorios de calcio intracelular, induciendo la necesidad de la célula a aumentar la concentración de este (11).

Existe también evidencia convincente sobre el papel del ATP extracelular en la regulación fisiológica de las células β . Se ha reportado que las células β liberan ATP al momento de la exocitosis de la insulina. La generación de señales purinérgicas por medio de los receptores P2Y y P2X favorece la movilización de calcio, modulando la exocitosis de la hormona de forma independiente a la glucosa. Los receptores purinérgicos P2Y están anclados a proteínas G y los P2X se tratan de canales de tipo iónico no selectivos para cationes que se activan por ATP. En el caso de los primeros se ha propuesto que la exocitosis de insulina posiblemente esté mediada por la movilización del calcio ubicado intracelularmente en consecuencia a la formación de inositol-1,4,5-trifosfato (IP3) que induce la liberación del calcio almacenado en el RE, generando así una amplificación de la señal inicial del calcio que desencadena la exocitosis de insulina (Figura 2) (12).

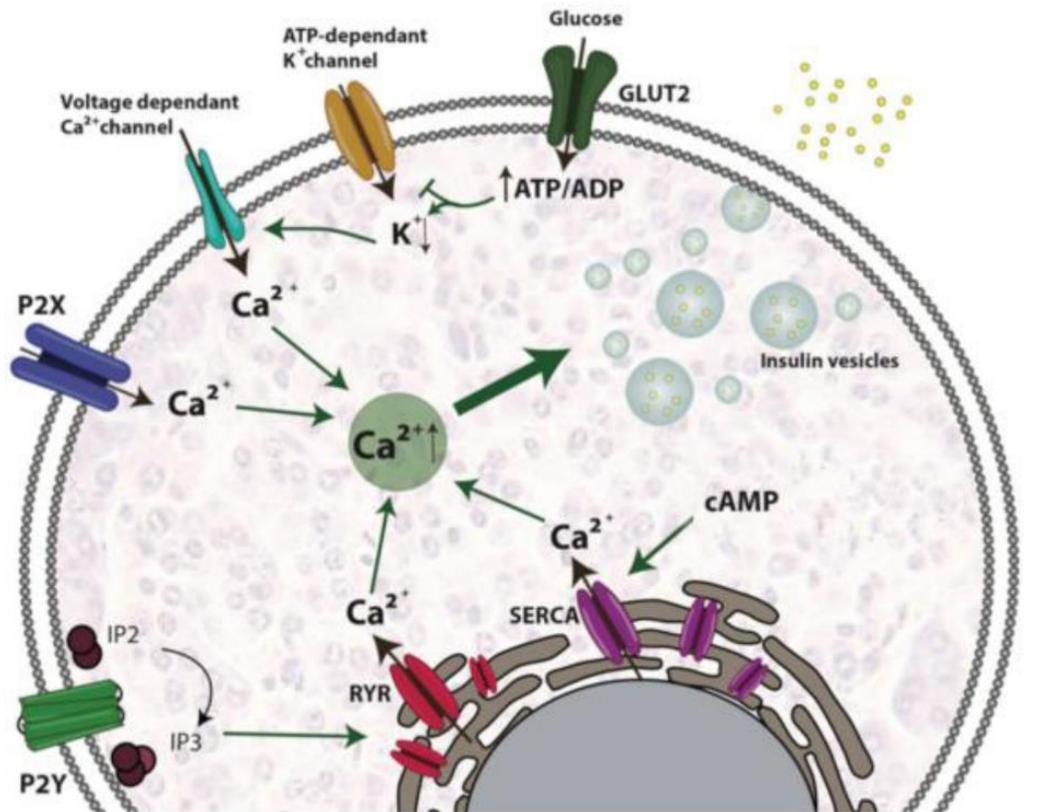


Figura 2. Fisiología de células β . Vías de señalización involucradas en la secreción de insulina en células β en condiciones fisiológica, tomado de Galicia Garcia *et al.* 2020;21(17):6275 (12).

3.1.4.2. *Disfunción de Células β*

El funcionamiento fisiológico alterado de las células β se ha asociado de forma tradicional con la muerte de dichas células, sin embargo, recientes reportes proponen que la disfunción de este grupo celular en la DMT2 puede estar relacionado a una compleja interacción entre el ambiente y las distintas vías moleculares implicadas en su fisiología. Particularmente se evidencia el papel de la dieta en un estado de ingesta excesiva de nutrientes semejante al presente en la obesidad, ya que comparten la generación de estados crónicos como la hiperglucemia e hiperlipidemia, condiciones que facilitan la resistencia a la insulina (RI) y un estado crónico de inflamación. Dichas condiciones, aunado además a un fondo genético que confiere cierto grado de susceptibilidad a diferentes factores favorecen la disfunción de las células β , como lo pueden ser el estrés oxidativo, estrés amiloide, estrés en el retículo plasmático, inflamación crónica, entre otras que facilitan en instancias avanzadas a una integridad de los islotes celulares particularmente dañada (13).

El incremento de ácidos grasos libres (AGL) en sangre y la hiperglucemia favorecen la falla fisiológica de las células β al inducir el estrés del RE por medio de la activación de la vía de respuesta apoptótica a proteínas desplegadas (*Unfolded Protein Response*, UPR, en inglés). Son la glucotoxicidad, la lipotoxicidad y, por ende, la glucolipotoxicidad las responsables del estrés oxidativo característico de la obesidad los que producen a la disfunción de las células β (14). El estrés producto de los niveles elevados de AGL saturados pueden inducir a la activación de la vía UPR por diversos mecanismos en los que se incluye la inhibición de la $\text{Ca}^{+2}/\text{ATPasa}$ del sarco/endoplasmático, el cual se encarga de la movilización del calcio, activación de los receptores inositol trifosfato (IP3 por sus siglas) o incluso defectos en la homeostasis del RE. Del mismo modo, los índices elevados de glucosa incrementan la biosíntesis de proinsulina y los péptidos amiloides de los islotes en las células β , hecho que induce a la aglomeración de

insulina mal plegada y de los péptidos amiloides, incrementando así la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS) (15). Estos fenómenos alteran la movilización correcta del calcio proveniente del RE y favorecen la generación de señales proapoptóticas, degradación del ARNm de la proinsulina e induciendo la exocitosis de interleucina (IL)-1 β , la cual se encarga de reclutar la migración de macrófagos, incrementando la respuesta inflamatoria local en los islotes de células β (Figura 3) (12, 14).

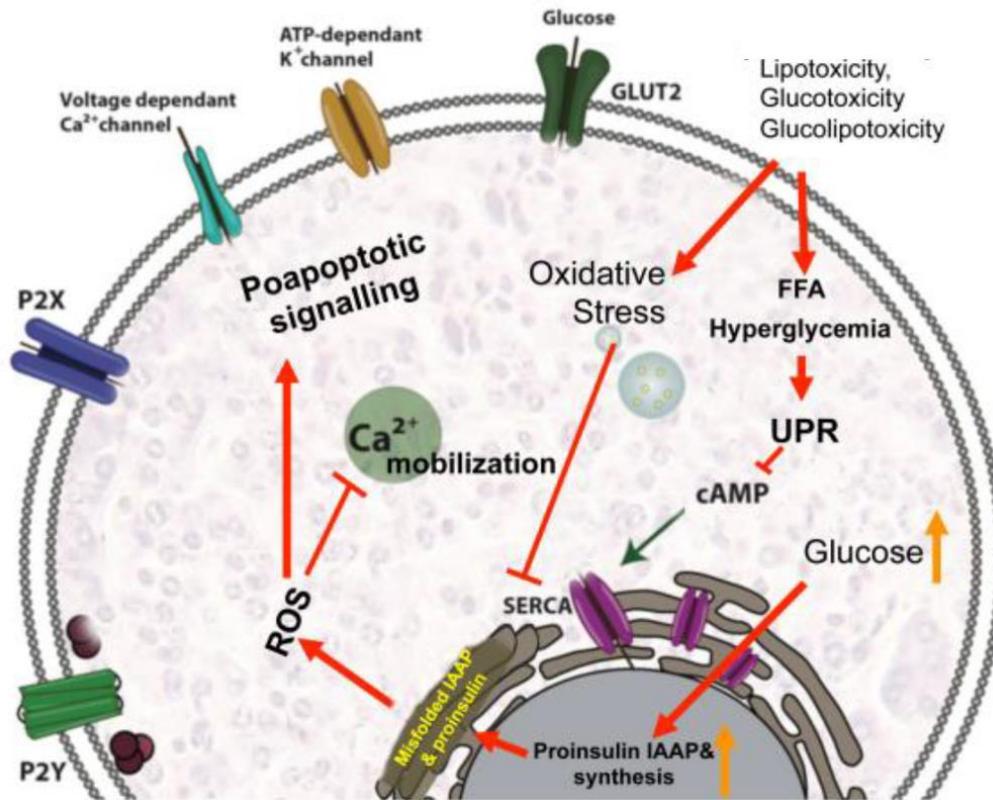


Figura 3. Disfunción de células β . Hiperglucemia y la hiperlipidemia promueven el estrés oxidativo que conduce a la generación de ROS que inhibe la movilización de Ca²⁺ y activa las señales proapoptóticas, tomado de Galicia Garcia U, *et al.* 2020;21(17):6275 (12).

3.1.4.3. *Resistencia a la insulina*

Se le llama resistencia a la insulina (RI) a una reducción de la respuesta metabólica en las células hacia la insulina, o bien, a nivel sistémico, una respuesta deficiente o reducida a la hormona insulina circulante por los niveles glucémicos (16).

La RI se puede clasificar en 3 amplias condiciones de deficiencia (17):

- Reducción de la exocitosis de insulina por parte de las células β pancreáticas.
- Presencia de antagonistas de la insulina circulantes, llevada a cabo por hormonas reguladoras de la insulina o por moléculas no hormonales que bloquean los receptores de esta.
- Alteración de la respuesta a la insulina en los tejidos diana.

La hormona del crecimiento (GH) y el factor de crecimiento insulínico tipo 1 (IGF-1) también ejercen influencia sobre la acción de la insulina, así como el estado de alimentación. Durante los episodios de ayuno, la acción de la insulina es amortiguada por el glucagón, los glucocorticoides y las catecolaminas para prevenir niveles glucémicos preocupantemente bajos inducidos por la insulina. Esta proporción de insulina-glucagón desempeña un rol importante en la regulación de la glucemia, debido a que establece el grado relativo de fosforilación de las enzimas “río abajo” en las vías de señalización reguladoras. Por otra parte, las catecolaminas inducen procesos de lipólisis y glucogenólisis, mientras que los glucocorticoides favorecen el catabolismo muscular, la formación de glucosa y la lipólisis. Con lo anterior podemos apreciar el papel de la secreción desmedida de hormonas y reguladores en la generación de RI. Respecto a la alteración de la respuesta a la insulina en los tejidos diana, existen 3 órganos principales susceptibles a la insulina (sin contar al páncreas) que ejercen roles importantes en los procesos mencionados anteriormente: el tejido muscular, el tejido adiposo y el hígado. La respuesta

metabólica defectuosa de la insulina en alguno de estos tejidos favorece el desarrollo de RI, la cual desemboca de forma progresiva en el desarrollo de DMT2 (18).

3.1.5. Factores de Riesgo

El desarrollo de DMT2 es dependiente de la conjunción de factores variables que van desde la predisposición genética por mutaciones que favorezcan su fisiopatología, como la clase de estilo de vida que lleve la persona afectada. Entre el listado de factores que favorecen el desarrollo de DMT2 se encuentran los siguientes(19):

- Tener prediabetes.
- Tener sobrepeso.
- Tener 45 años o más.
- Hacer actividad física menos de tres veces a la semana.
- Haber tenido alguna vez diabetes gestacional (diabetes durante el embarazo) o el bebé pesó más de 9 libras al nacer.
- Personas de raza afroamericana, hispana o latina, indoamericana o nativo de Alaska.
- Tabaquismo.

Respecto a las bases genéticas que predisponen el desarrollo de DMT2 la primera variante génica asociada fue la mutación Pro12Ala en el gen PPARG, responsable de un receptor nuclear llamado PPAR y cuya expresión es realizada en el tejido adiposo ya que ahí realiza la regulación de transcripción de genes implicados en procesos de formación del tejido adiposo. Las personas que poseen el alelo de la prolina tienen más predisposición a la resistencia a la insulina y por tanto al riesgo de desarrollo de la enfermedad DMT2 (20).

Otro gen asociado con el desarrollo de DMT2 es el KCNJ1, este codifica para canales dependientes de potasio en las células β y cumple relación funcional con el receptor SUR1 (21).

Del mismo modo se encuentra asociado con DMT2 el gen llamado transcription factor 7-like 2 (TCF7L2), el cual expresa proteínas directamente involucradas en la secreción de insulina (22).

Gracias a la creación de los estudios de asociación de genoma completo (GWAS) se ha conseguido la identificación a gran escala de genes implicados en distintos puntos de la patogénesis de la DMT2. En genes y mutaciones implicadas en la fisiología de las células β se reportan los genes HNF1B, WFS1, GCK, CDKN2A/2B, CDKAL1, SLC30A8, IGF2BP2, THADA, NOTCH2, CDC123, CAMK1D, HHEX, IDE, TSPAN8, JAZF, KCNQ1, MTNR1, ADCY5, PROX1, DGKB. Mientras que respecto a genes implicados en la acción de la insulina se reportan ADAMTS9, IRS1 y GCKR (23).

3.1.6. Diagnóstico y tratamiento

Según el Atlas de diabetes de la Federación Internacional de Diabetes (IDF por sus siglas en inglés) los criterios bioquímicos de laboratorio convencionales para la confirmación del diagnóstico de diabetes son los siguientes (24):

- Hemoglobina glucosilada fracción A1c (HbA1c) ≥ 6.5 % (prueba estandarizada y realizada en el laboratorio).
- Glucosa en ayunas ≥ 126 mg/dL (con ayuno de por lo menos ocho horas).
- Glucosa en plasma a las dos horas ≥ 200 mg/dL luego de que se le haya aplicado una prueba de tolerancia oral a la glucosa al paciente (según la técnica descrita por la Organización Mundial de la Salud), por medio de la administración previa de una carga de glucosa anhidra de 75 g disuelta en agua.
- Hiperglucemia o glucemia ≥ 200 mg/dL.

Respecto al tratamiento la guía de práctica clínica del IMSS refiere dos tipos: no farmacológico y farmacológico. Para el primer caso se recomienda modificación del estilo de

vida, tratamiento médico de asesoría nutricional y un incremento en la actividad física. En el caso del tratamiento basado en fármacos este se resume en la administración de hipoglucemiantes o insulina esperando una reducción del 1 al 2 % de la HbA1c. (25).

3.1.7. Complicaciones de la DM

La prevalencia de la DMT2 ha mantenido un aumento progresivo de carácter preocupante en el último par de décadas, trayendo este consigo el consecuente aumento en la morbilidad y mortalidad derivadas del trastorno. Uno de sus principales factores agravantes es la amplia demora que toma su diagnóstico certero, estimándose este entre 6 y hasta 13 años desde el comienzo de las complicaciones microvasculares hasta el diagnóstico de DMT2. El retraso propio de las complicaciones de tipo macrovascular es naturalmente aún más pronunciado, apareciendo algunos factores de riesgo de tipo cardiovascular hasta 25 años previos al diagnóstico (26).

3.1.7.1. Complicaciones agudas

Las complicaciones agudas de la DM comprenden la cetoacidosis diabética (CAD), el síndrome hiperglucémico hiperosmolar (SHH) y la hipoglucemia iatrogénica. Los primeros dos son resultantes de una acción ineficaz de la insulina (ya sea a nivel absoluto o relativo) aunada a un incremento coordinado de las hormonas antagonistas; en el caso de la hipoglucemia iatrogénica esta es comúnmente el resultado de una mala gestión de los tratamientos indicados para controlar los índices glucémicos (27).

La patogénesis de la CAD y el SHH recae, como se mencionó antes, en una disminución de la insulina en estado circulante en acompañamiento del aumento de hormonas como las catecolaminas, el cortisol, glucagón y la hormona del crecimiento, todas ellas de rol regulador de la insulina. Como resultado de estos trastornos del metabolismo se manifiestan condiciones

como hiperglucemia, hiperosmolaridad del espacio extracelular, cetonemia (niveles elevados de cuerpos cetónicos en sangre) y la consecuente acidosis metabólica (27).

Los factores de riesgo de los que tiene evidencia de propiciar o favorecer el desarrollo de CAD y SHH son un cumplimiento irregular del tratamiento, el uso de tiazidas, enfermedad vascular y antipsicóticos de segunda generación. Como manejo de estos trastornos se tiene la reposición de líquidos para corregir el desbalance electrolítico y la administración de insulina para el control de la hiperglucemia (27).

La hipoglucemia derivada del tratamiento por administración de insulina, o también llamada hipoglucemia iatrogénica, es una condición que representa una barrera clínica de suma relevancia que surge en contra de los beneficios que ofrece el control glucémico estricto que requiere el manejo de DM. La hipoglucemia crónica en la diabetes desemboca en graves complicaciones micro y macrovasculares, por lo que optimizar la administración correcta del tratamiento representa un punto de inflexión integral en el manejo de la DM (27).

Los factores de riesgo para la hipoglucemia iatrogénica incluyen uso incorrecto de la insulina o medicación hipoglucemiantes, ayuno excesivo, excesivo consumo de alcohol, uso de pentamidina, quinina (beta-bloqueadores no selectivos), etc. Respecto a su tratamiento gran parte de los episodios de esta complicación de carácter leves o moderados pueden ser tratados por el individuo mismo al ingerir carbohidratos de acción rápida como lo pueden ser jugos, refrescos o caramelos. Únicamente cuando los síntomas son de severidad alta es que se vuelve necesaria la administración de glucosa por vía parenteral (27).

3.1.7.2. Complicaciones crónicas

Las complicaciones crónicas derivadas de la DM pueden catalogarse en 2 grandes conjuntos: aquellas de afectación macrovascular y las que son complicaciones a nivel

microvascular. En el primer conjunto encontramos trastornos arteriales desarrollados en vasos sanguíneos de mayor volumen como lo son la enfermedad vascular cerebral, enfermedad de las arterias coronarias y enfermedad arterial periférica; mientras que como complicaciones microvasculares se nombran la neuropatía diabética, la nefropatía y la retinopatía diabética (27).

Los factores de riesgo asociados a las complicaciones crónicas son un control inadecuado de la glucemia y la duración de la DM, sin embargo, existen factores de riesgo en los que se incluye la triada de síndrome metabólico: obesidad, dislipidemia e hipertensión. Malos hábitos como el tabaquismo o el sedentarismo también figuran como factores de riesgo de carácter modificable (27). Respecto al fondo genético identificado en asociación con el desarrollo de complicaciones diabéticas, utilizando estudios de asociación de genoma completo (GWAS), se han reportado 6 loci donde variantes representan susceptibilidad a complicaciones renales en la diabetes: AFF3, RGMA-MCTP2 y CDCA7-SP3 para enfermedad renal en etapa terminal; SCAF8-CNKSR3 para nefropatía diabética; y GLRA3 para albuminuria. Aunado a lo anterior, polimorfismos en el gen GBR2 están asociados con retinopatía diabética, mientras que variantes en las cercanías del gen GLUL se asocian con enfermedad cardiovascular en contexto de DM. A pesar de lo anterior, si se le compara con otras enfermedades de carácter complejo, el número de loci que han sido identificados continúa siendo demasiado escaso (28).

La patogénesis de las complicaciones crónicas tiene como factor implicado en común a la disfunción endotelial como causa principal en ambos tipos de diabetes; las células del endotelio realizan la regulación del tono vascular por medio de la liberación de factores relajantes derivados de endotelio (FRDE), entre los que se encuentran el óxido nítrico, prostaciclina y el llamado factor hiperpolarizador derivado de endotelio. En la figura 4 se muestra un esquema donde se describen los mecanismos del metabolismo implicados en la pérdida de función del endotelio por diabetes y sus repercusiones (27).

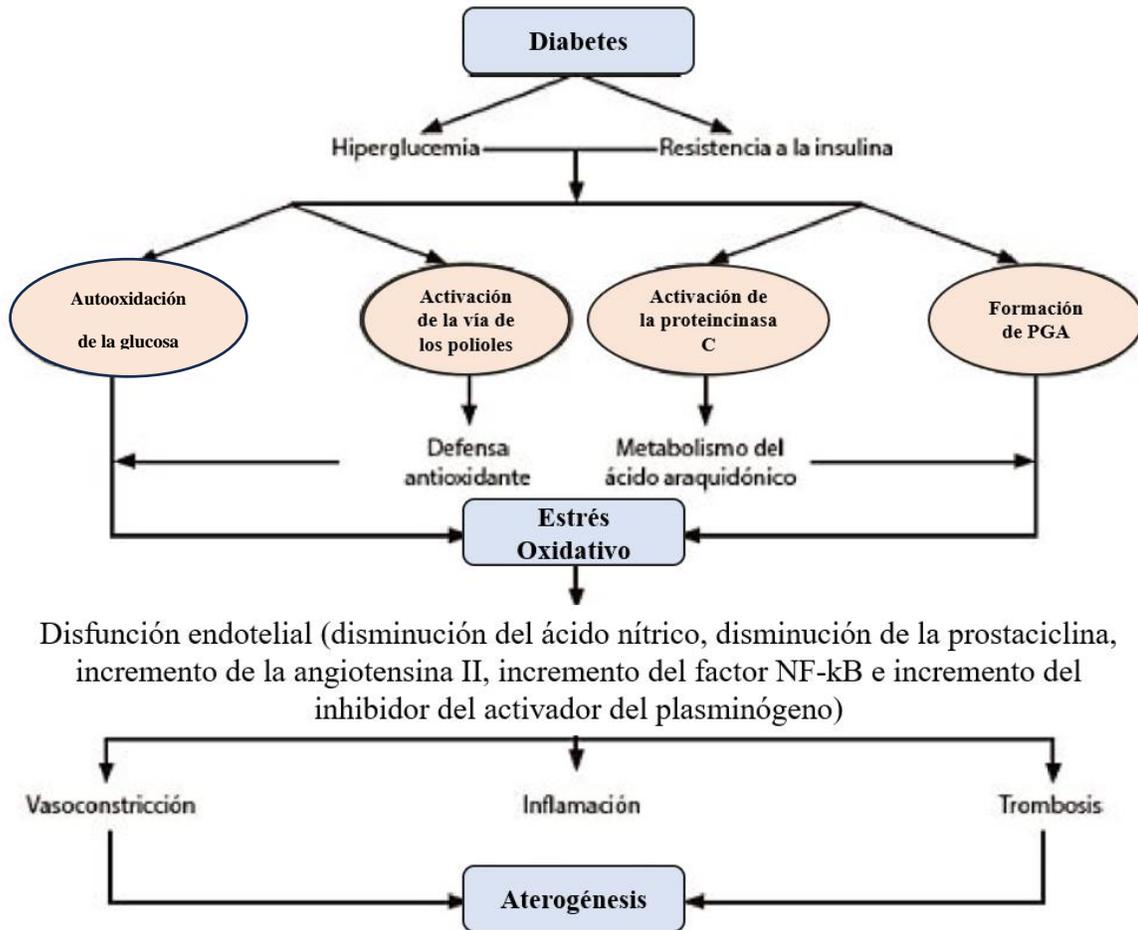


Figura 4. Mecanismos de la disfunción endotelial inducida por diabetes.

Modificada de Chawla R. Complicaciones de la diabetes, 2013 (27).

3.2. Retinopatía diabética

3.2.1. Anatomía del ojo humano

El globo ocular humano se encuentra ubicado en la cavidad orbitaria, conformada por la unión de los huesos frontal, maxilar, palatino, cigomático, esfenoides, palatino, etmoides y lagrimal. Este órgano es el responsable de la visión, sus dimensiones promedio son de un diámetro de 23 a 25 mm generalmente, de estructura prácticamente esférica y se puede diferenciar en 3 compartimentos: cámara anterior, cámara posterior y cámara vítrea (29).

La cámara anterior comprende al espacio formado entre la cara posterior de la córnea y la parte posterior del iris, está ocupada por el humor acuoso. Su periferia está limitada por el limbo esclerocorneal. Se le llama cámara posterior al espacio localizado atrás del iris y adelante del cristalino y el vítreo, también se encuentra llena de humor acuoso. La cámara vítrea se localiza delante del cristalino y el llamado cuerpo ciliar, está ocupada por humor vítreo en contacto con las zonas previamente mencionadas y también con la capa nerviosa del ojo, llamada retina (29).

El ojo humano posee 3 capas (llamadas tónicas) y un par de lentes encargados de la refracción de la luz, posibilitando la generación de imágenes. Estas 3 capas son la fibrosa, la vascular y la nerviosa (30).

3.2.1.1. Capa Fibrosa

La capa fibrosa del ojo está conformada por 2 secciones esencialmente, las cuales son la córnea y la esclera. La sección anterior es un tipo de casquete de esfera y está compuesta por la córnea, sus dimensiones representan una quinta parte de la totalidad de la superficie; el resto de la superficie corresponde a la sección posterior conformada por la esclera (30).

- **Córnea:** esta porción ocular configura parte de la capa más superficial del ojo y es el principal medio de refracción de este. Su conformación tisular está dividida en 5 capas que, de anterior a posterior, se distribuyen de la siguiente manera: epitelio, membrana de Bowman, estroma, membrana de Descemet y por último el endotelio (30).
- **Esclera:** Se trata de una membrana de color blanco y de relativa resistencia. Mide alrededor de 1 milímetro de espesor y está formada por tejido conjuntivo de alta densidad con una cantidad abundante de fibras de colágeno. El rol de la esclera es el proporcionar rigidez al ojo y proteger los componentes dentro de este. La esclera y córnea están unidas por algo llamado limbo esclerocorneal. Debe su opacidad a la variabilidad entre los espacios que separan las fibras, así como el diámetro y entrecruzamiento de estas. Posee una abertura posterior que posibilita la salida del nervio óptico, siendo esta de forma de embudo invertido ya que su diámetro anterior interno es aproximadamente de 1.5 a 2 milímetros, mientras que el posterior tiene un diámetro de 3 a 3.5 milímetros. En esta ubicación 2/3 partes externas de la esclera se distribuyen hacia atrás para fusionarse con la llamada vaina dural del nervio en cuestión, la tercera parte restante se funde con el tejido coroideo. Este agujero posee diminutas perforaciones que posibilitan el acceso de los fascículos del nervio óptico. Toda esta región posee relevancia patológica pues se trata de la región más endeble de la cobertura externa perteneciente a la esclera y esta suele desplazarse hacia el exterior en condiciones de elevada presión en el ojo; razón por la cual las fibras nerviosas, envueltas por los canales fibrosos, suelen estrangularse ante la presencia de procesos de inflamación (29).

3.2.1.2. *Capa Vascular*

La conformación de la túnica vascular se divide en 3 capas que, en dirección anteroposterior, se distribuyen como: iris, cuerpo ciliar y coroides (30).

- Iris: Representa la porción anterior de la capa a la que pertenece. Esta se encuentra proyectada desde el cuerpo ciliar y es una estructura de pigmentación variable en función de la cantidad de melanina y la distribución de esta; es la responsable de darle tonalidad a los ojos en su abertura central llamada pupila. Esta capa tiene la facultad de generar variaciones en el diámetro de la pupila gestionando la cantidad de luz que se direcciona a la retina. A estas variaciones en el diámetro se les llama midriasis en caso de dilatación y miosis cuando se presenta una constricción (30).
- Cuerpo ciliar: Se trata de una estructura cuya forma asemeja a un triángulo y ejerce como un andamio conector entre las secciones anteriores y posteriores del globo ocular. Tiene alto grado de pigmentación y posee en su conformación al llamado músculo ciliar y fibras conocidas como procesos ciliares; se trata de fibras que se proyectan desde el cuerpo ciliar y gracias a la presencia de estas es que se posibilita la extensión de las fibras zonulares que se insertan en el cristalino y le funcionan como andamio para conservar su localización. El cuerpo ciliar se extiende de forma envolvente sobre el ojo rodeándolo como una especie de anillo (30).
- Coroides: Conforman la sección posterior del llamado tractor uveal. Se trata de una capa pigmentada con alto grado de vascularización que se fusiona con la retina en su porción interna y con la esclera en la externa. Su función es nutrir la parte posterior de la retina (30).

3.2.1.3. *Capa Nerviosa*

La capa nerviosa está conformada por la retina y se trata de la capa más interna del ojo y tiene la cualidad de ser fotosensible gracias a la presencia de fotorreceptores y elementos de tipo neuronal que desencadenan el procesamiento de la información adquirida mediante la visión. La retina posee dos estructuras relevantes: el disco óptico y la mácula. El disco óptico es la región donde se localizan los vasos arteriales y venosos, además del segmento inicial del nervio óptico. La mácula se dispone lateralmente al disco óptico y en ella se encuentra la llamada fovea central, región de la retina cuya cualidad principal es la de ser la zona con agudeza visual más abundante (30). En la figura 5 puede visualizarse la anatomía del ojo humano con sus estructuras más importantes.

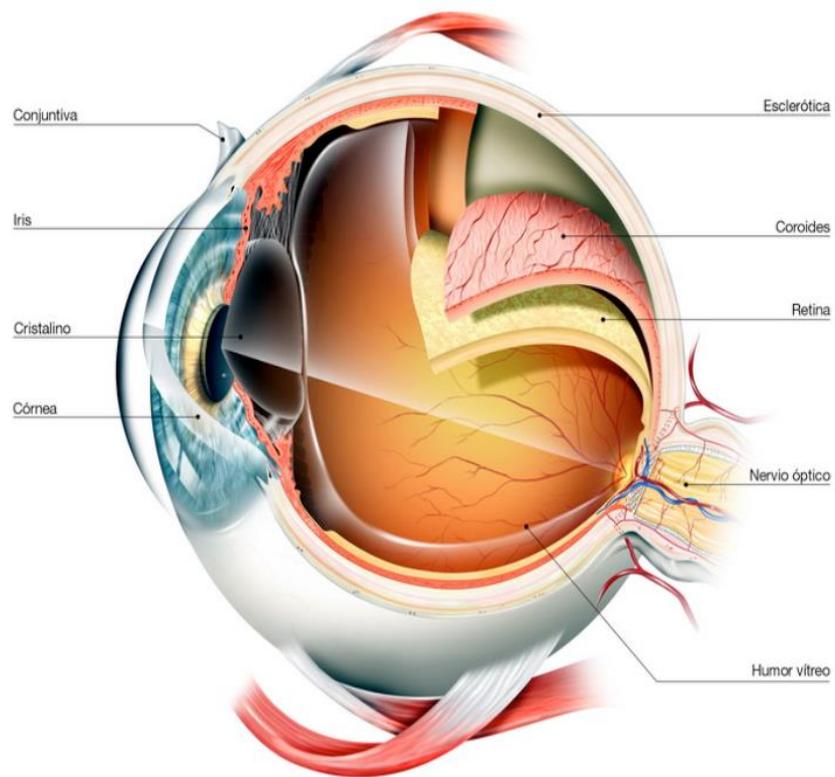


Figura 5. Estructura del globo ocular humano. Recuperado a partir de: <https://drsoler.com/problema-de-vision/el-ojo-humano> (31).

3.2.2. Retinopatía Diabética

La retinopatía diabética (RD) es una condición caracterizada por la ruptura de la barrera hematorretiniana (BHR), pérdida de pericitos capilares y endotelio, formación de microaneurismas, disfunción neuronal/glial e isquemia progresiva en las primeras etapas (no proliferativas). La Academia Americana de Oftalmología (AAO) define a la retinopatía diabética como alteraciones en los vasos sanguíneos de la retina debidas a la presencia de altos niveles de glucosa. La repercusión de estos trastornos vasculares es un aporte de oxígeno deficiente hacia el tejido retinal, produciéndose hemorragias, microaneurismas y demás filtraciones de macromoléculas provenientes de los vasos afectados (32).

La OMS reporta a la RD como la causa principal de ceguera global con un 4.8%, incrementando el porcentaje hasta un 7% en la región de Latinoamérica. Según el reporte de la Asociación Americana de Diabetes, la causa de mayor frecuencia de la incidencia de ceguera en población adulta en el 2018 fue la RD, principalmente en el rango de edades entre los 20 y 74 años (33). En México, según datos de la Secretaría de Salud, al año 2018 esta complicación derivada de la DM tiene una prevalencia estimada de 31.5%, convirtiéndose además en la causa más frecuente de pérdida parcial de la visión en adultos (34).

3.2.2.1. Clasificación

La RD se clasifica en función de su grado de severidad, existiendo en esencia dos grados: las fases tempranas se denominan RD no proliferativa (RDNP) y las fases tardías con deterioros avanzados se denominan RD proliferativa (RDP). Con mayor especificidad, se pueden distinguir 5 grados que se diferencian en observación oftalmoscópica (se resumen en la Tabla 1) (35):

- Grado 0. Sin retinopatía identificable

Las imágenes de fondo de ojo no distinguen anomalía alguna en este grado (los microaneurismas tampoco son identificables). Un individuo afectado con DM presenta una posibilidad inferior a 1% al desarrollo de RDP en los 4 años subsecuentes (35).

- Grado 1. RDNP leve

Denominada etapa temprana. Aquí los exámenes identifican microaneurismas como única anomalía y la probabilidad de los pacientes con DM a desarrollar una RDP en los 4 años subsecuentes incrementa al 5% (35).

- Grado 2. RDNP moderada

Durante esta etapa se manifiesta una inflamación de los vasos sanguíneos. Pueden observarse además algunas hemorragias en la retina y/o microaneurismas, siendo capaces de manifestarse exudados duros o lipídicos y blandos o algodinosos mientras se presentan las dilataciones en venas (35).

Grado 3. RDNP severa

La etapa severa de la enfermedad se caracteriza por la manifestación de hemorragias intrarretinianas de grado severo, dilataciones venosas o IRMA (intraretinal microvascular abnormality) o anomalías microvasculares intrarretinianas, siendo estas últimas un tipo anormal de vasos finos de carácter tortuoso que se insertan en la arquitectura vascular de la retina. La aparición de estos vasos provoca que los vasos sanguíneos se tapen impidiendo la irrigación a ciertas regiones del tejido retinal. La misma falta de irrigación sanguínea propicia la generación de señales para que se desarrollen nuevos vasos sanguíneos formado tejido cicatricial. La probabilidad de pacientes con RDNP en grado severo a desarrollar RDP se ve incrementada en un 17% dentro de un periodo de 3 años. (35).

Grado 4. RD proliferativa

Se trata de la etapa más avanzada de la RD; se caracteriza por la formación de nuevos vasos sanguíneos anormales en un proceso conocido como neovascularización. Esta puede manifestarse en la superficie interna de la retina e incluso en la cavidad vítrea, desembocando en la producción de hemorragia vítrea. Es común que la neovascularización se vea acompañada de tejido prerretiniano que, en conjunto con el vítreo, puede presentar contracción y conducir a un desprendimiento de la retina por acción de tracción. Además, si la neovascularización se presenta en el segmento anterior del globo ocular sobre el iris puede ocurrir el crecimiento de una membrana neovascular en el ángulo de la cámara anterior del ojo en el borde periférico del iris, ocasionando glaucoma neovascular (35).

En la figura 6 se pueden apreciar imágenes de fondo de ojo de casos de RD no proliferativa de grado severo y RD proliferativa con sus manifestaciones principales (36).

Grado de severidad	Manifestaciones
Grado 0: No RD observable	Sin anomalías observables
Grado 1: RDNP leve	Presencia de pocos microanuerismas
Grado 2: RDNP moderada	Presencia de más microanuerismas, pero en menor cantidad que en el grado 3
Grado 3: RDNP severa	Alguno de las siguientes: <ul style="list-style-type: none"> • Más de 20 hemorragias intrarretinales • Anomalías microvasculares en la retina
Grado 4: RD proliferativa	<ul style="list-style-type: none"> • Neovascularización, principalmente • Hemorragia vítrea

Tabla 1. Grados de severidad de la RD en función de lesiones observables, modificado de Herrero Tudela M, 2021 (35).

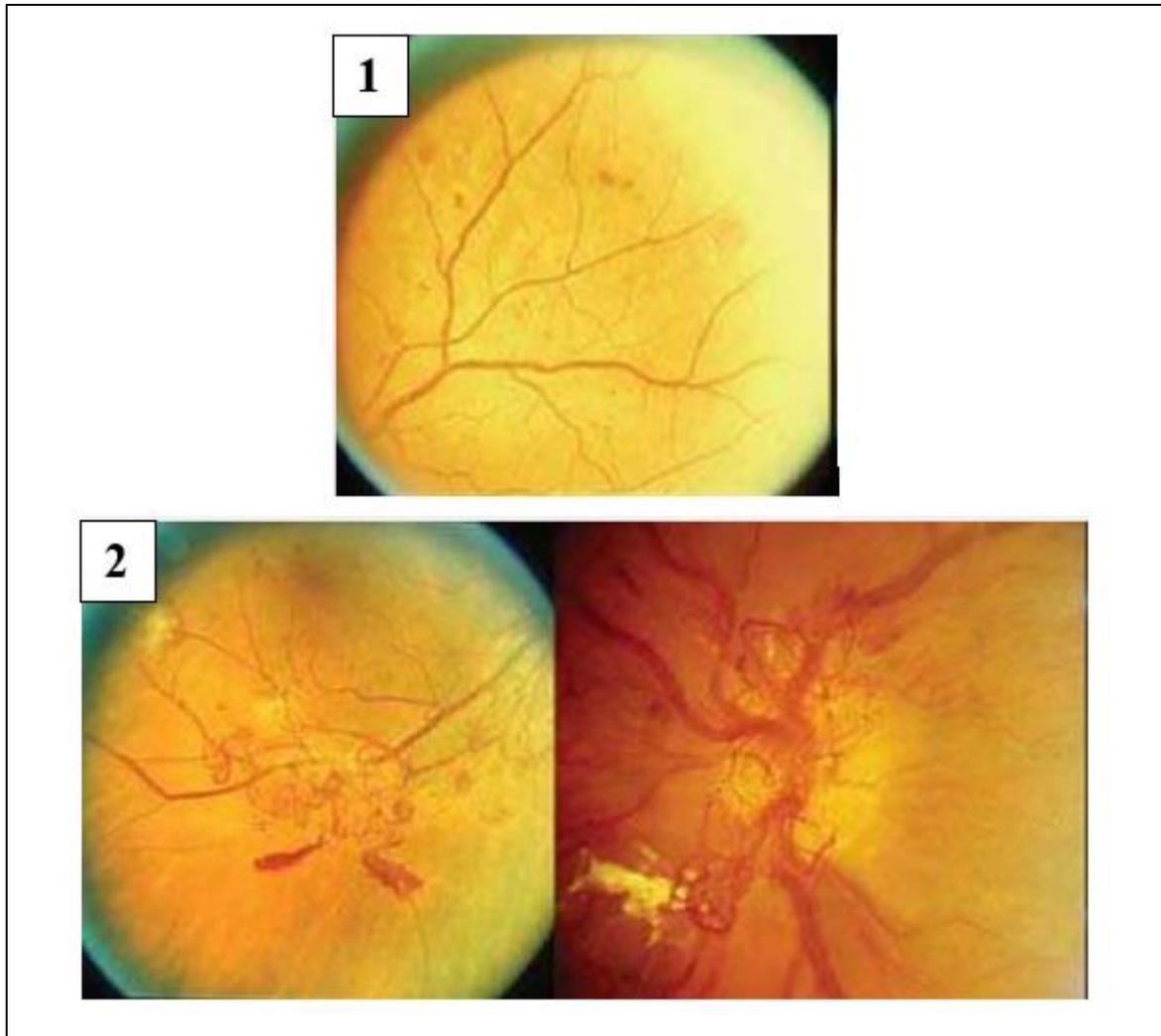


Figura 6. Grados de severidad de Retinopatía Diabética. En la imagen 1 se puede apreciar una imagen de fondo de ojo de un caso de RD no proliferativa severa con presencia de múltiples microaneurismas. En la imagen 2 se puede apreciar un fondo de ojo de un caso de RD proliferativa con presencia de hemorragias, neovascularización y exudados sólidos (36).

3.2.2.2. *Complicaciones de la RD*

Aunado al desprendimiento retinal que fue descrito antes, algunas de las complicaciones que se pueden manifestar en la retinopatía son: (37):

- Hemorragia retrohialoidea: sangrado ubicado entre el vítreo y la retina que puede desembocar en una hemorragia vítrea (ubicada al interior).
- Glaucoma neovascular: es producido como resultado de la formación de nuevos vasos sanguíneos en la unión de córnea e iris. Tiene su origen principalmente por isquemia retiniana.
- Edema macular: Complicación únicamente identificable mediante el uso de una lámpara de hendidura o mediante la realización de una angiografía fluoresceínica.
- Isquemia retiniana: Una vez dañada la región central de la retina (mácula) generará pérdida de la visión a un grado irreversible, si logra extenderse al resto de la retina desencadenará la formación de nuevos vasos sanguíneos. Una angiografía fluoresceínica puede posibilitar su visualización. La técnica angioOCT también puede funcionar.

3.2.2.3. *Diagnóstico*

El diagnóstico de la RD se realiza con un examen inicial convencional que incluya: tiempo diagnosticado con DM, historial de control glucémico y antecedentes patológicos del individuo. Por otra parte, el examen oftalmológico debe abarcar examen de agudeza, biomicroscopia mediante el uso de lámpara de hendidura, medición de la presión intraocular, gonioscopia y examen de fondo de ojo (38).

Los especialistas en oftalmología deben realizar una evaluación de fondo de ojo bajo dilatación pupilar mediante una oftalmoscopia o biomicroscopia con lámpara de hendidura y con lente apropiado con el fin de detectar la presencia y severidad de la RD, así como edema

macular diabético (EMD). Debe realizarse un diagnóstico de los dos ojos individualmente categorizando su gravedad y la presencia o ausencia de edemas maculares cistoides (EMCS) pues cada globo ocular puede manifestar condición y progresión distinta (38).

3.3. Productos Finales de Glicación Avanzada (AGEs)

Llamados productos finales de glicación avanzada (advanced glycation end products, AGEs, en inglés) son grupo de compuestos moleculares altamente heterogéneos producto de reacciones de tipo no enzimático, formados por azúcares reductores y lípidos oxidados, los cuales interactúan con los grupos amino libres de las proteínas, así como con aminofosfolípidos o incluso con ácidos nucleicos. Existen 3 vías diferentes conocidas para la formación de AGEs, las cuales se sintetizan en la Figura 3 (39).

Inicialmente la formación de AGEs comienza por un proceso conocido como reacción de Maillard, la cual desemboca en la generación de moléculas glicosiladas nombradas productos de glicación temprana o productos de Amadori. Estos productos de Amadori sufren una serie de reordenamientos, reacciones de óxido-reducción, deshidratación, condensación, generación de fragmentos y en última instancia ciclaciones que derivan en la formación de AGEs irreversibles. Una ruta más para la formación de estos AGEs es la llamada ruta de los polioles, vía donde se realiza la conversión del azúcar glucosa en fructosa, además promoviendo su glicación; la fructosa es entonces capaz de convertirse en 3-desoxiglucosa y fructosa-3-fosfato, moléculas que representan agentes capaces de generar glicación no enzimática de naturaleza muy vigorosa (40, 41).

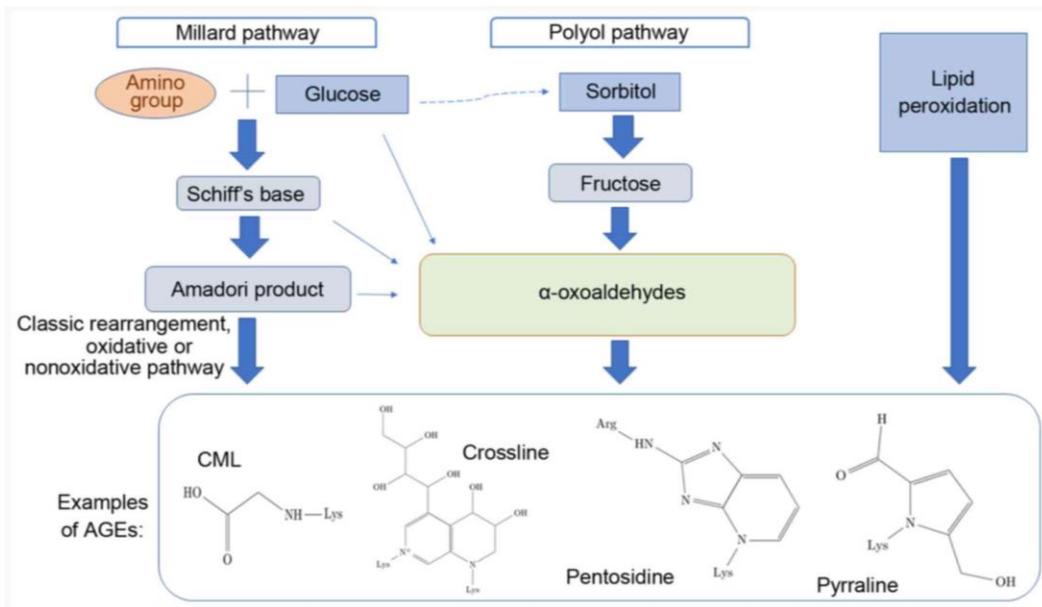


Figura 7. Vías de formación de AGEs. Se incluyen la vía de Millard, la vía de los polioles y la vía de peroxidación lipídica. También se muestran las fórmulas estructurales de los tipos más comunes de AGEs, tomado de Kuzan A, 2021 (39). AGEs, productos finales de glicación avanzada; CML, carboximetilisina.

Después de sus cambios conformacionales, los productos se unen estrechamente con las proteínas disponibles y se entrecruzan aún más con proteínas de larga duración, como el colágeno, la proteína del cristalino, la hemoglobina, la lisozima, la fosfatasa alcalina, la elastina, etc. La glicación de algunas proteínas importantes, como la β -amiloide presente en el tejido neuronal, puede afectar la progresión de la enfermedad de Alzheimer (EA). Su acumulación en los tejidos cerebrales representa un marcador para el diagnóstico y pronóstico de la enfermedad al formar placas amiloides, ovillos neurofibrilares y microglía activada. Con la participación de proteínas estructurales, como el colágeno, el entrecruzamiento in vivo de los AGEs da como resultado el endurecimiento de la matriz extracelular, lo que provoca una mayor disfunción de los vasos y órganos (42).

Existe evidencia que indica que los AGEs repercuten de forma negativa en diversos procesos mediante dos mecanismos: de forma directa mediante la captura y entrecruzamiento de péptidos y proteínas, y de forma indirecta por medio de su acople a receptores específicos para estos en la superficie celular. La unión de los AGEs a sus receptores induce la activación de diversas vías de señalización en las que se incluye NF- κ B, MAPK y Jun N-terminal quinasa, las cuales están involucradas en procesos transcripcionales de proteínas como citoquinas, quimiocinas, factores de crecimiento, entre muchas otras. De este modo, los AGEs terminan generando alteraciones en procesos de quimiotaxis, angiogénesis, estrés oxidativo, proliferación celular y por supuesto en procesos apoptóticos (40, 41).

3.3.1. Relación de AGEs con Diabetes

El nivel de generación de AGEs endógenos dependerá de la cantidad de sustrato disponible (monosacáridos en este contexto), sin embargo, otro factor que también repercute en modular la generación de estos es la tasa de renovación proteica. Aquellos polipéptidos de vida larga que posean altas cantidades de los aminoácidos lisina y arginina resultan altamente susceptibles a sufrir glicaciones. Algunos factores que incrementan la tasa basal de acumulación de AGEs son la edad, hiperglucemia crónica, estrés oxidativo y estados de inflamación crónica (43).

Un incremento en la concentración de AGEs circulantes, en personas afectadas por DM2, podría ser el resultado de un mantenimiento en ciclo de su producción, esto gracias a la actividad de la albúmina glicosilada la cual suspende el metabolismo fisiológico de la glucosa en el tejido muscular y adiposo, hecho que conduce a una disminución en la captación de glucosa mediada por un alto índice glucémico e insulina. Este incremento se ha reportado en asociación con múltiples complicaciones diabéticas (principalmente a nivel de microvasculatura) en las que se incluyen la retinopatía, nefropatía y neuropatía. Aunado a lo anterior, la inmunosupresión característica de la DM puede tener relación con la función comprometida de las inmunoglobulinas al encontrarse en estado glicosilado (44).

La evidencia científica respecto a la repercusión de los altos niveles de AGEs en la etiología de comorbilidades en asociación con DM ha venido en aumento en los últimos años, reportando el desarrollo de enfermedades como esteatosis hepática, osteoporosis e incluso síndrome de ovario poliquístico. En individuos que cursan con enfermedad vascular de tipo periférico y DM se han realizado estudios donde se reportan niveles de carboximetilisina (CML) y demás AGEs más elevados, comparándolos con personas que no padecen DM (44-46).

La repercusión dañina que ejercen los AGEs se debe principalmente a su interacción con estructuras proteicas o con sus funciones, así como el propio entrecruzamiento de algunos AGEs. Estos se localizan comúnmente en la matriz extracelular por lo que las proteínas presentes en ella, cuando están alteradas por la presencia de AGEs, modifican su estructura y disponibilidad de ligando lo que desemboca en deterioro o falla en la interacción matriz con matriz o matriz con otra célula. Entre los efectos capaces de desencadenar este tipo de acciones son la inducción a apoptosis, fallas en la diferenciación, adhesión o migración celular. Además de los daños generados mediante la interacción directa con las estructuras proteicas, los AGEs también generan efectos deletéreos a las células mediante la activación de su receptor, llamado receptor de productos finales de glicación avanzada (AGER), sus características y mecanismo de acción serán mencionadas más adelante (47).

Las vías moleculares de la resistencia a la insulina donde los AGEs están involucrados aún no se conocen bien, sin embargo, se han realizado estudios *in vitro* e *in vivo* en los cuales se busca dar sentido a esta interrogante. Debido a su alta susceptibilidad a ser glicosiladas, las proteínas séricas son uno de los objetivos principales a estudiar, existen estudios donde se reporta cómo la albúmina glicosilada es capaz de estimular la expresión del factor de necrosis tumoral alfa ($TNF\alpha$), citoquina que anula la señalización de la insulina. Del mismo modo, la proteína quinasa C alfa ($PKC\alpha$) ha sido reportada como blanco de la albúmina glicosilada, interacción que desemboca en un incremento de la fosforilación serina-treonina del sustrato del receptor de la insulina 1 y 2 (IRSS), pero disminuyendo la fosforilación de la tirosina de este. Esta situación resultó en una alteración de la señalización de la insulina por medio de la vía del fosfatidilinositol 3-quinasa e inhibiendo el metabolismo de la glucosa mediado por esta hormona. Estudios anteriores ya reportaban el papel del $TNF\alpha$ y las proteínas de la familia PKC en el mecanismo de generación de RI (47).

3.4. Receptor de los Productos Finales de Glicación Avanzada (AGER)

Conocido como receptor de productos finales de glicación avanzada (AGER) es un receptor membranal capaz de reconocer múltiples ligandos, este es perteneciente a la superfamilia de las inmunoglobulinas. Se trata de un receptor de reconocimiento de patrones (PRR) cuya masa molecular oscila entre los 47 y 55 kDa, y está conformado por 394 aminoácidos. Se encuentra dividido por 3 regiones diferentes: una porción extracelular conformada por dominios de inmunoglobulina de tipo V₁, C₁ y C₂, además de una porción transmembranal y una citosólica de tamaño corto. Sus dominios V₁ y C₁ son considerados como los de principal interacción con ligandos y, por otra parte, la porción citoplasmática es la responsable de la cascada de señalización del receptor. Se especula que sus dominios de tipo V₁ y C₁ pueden ejercer un papel de trampa electrostática que actúan como imán para moléculas con carga negativa, esto gracias a la naturaleza de carga neta positiva de los mismos; de este modo las moléculas de AGEs se ven atraídas al receptor AGER (48).

Según el *Comité de Nomenclatura de Genes Humanos* (HUGO Gene Nomenclature Committee, HGNC), existen diecinueve variantes de ensamblaje del gen AGER, y estas se nombran con la letra V yendo desde V1 a V19. El receptor AGER puede generar 4 isoformas o presentaciones además de la acoplada a la superficie celular: se les llama AGER N-truncado, el cual no presenta dominio variable (es decir, es incapaz de captar ligandos), AGER Dominante-negativo, el cual no posee dominio citosólico (es decir, es incapaz de transducir señales al interior de la célula), AGER escindido (cAGER) y AGER secretor endógeno (esRAGE). En la figura 8 se pueden apreciar las distintas formas del receptor AGER (49). Estas 2 últimas presentaciones del receptor son originadas por acción de una enzima llamada metaloproteinasas de membrana, o ADAM10 por su abreviación del inglés, y por el splicing alternativo del ARN

mensajero del gen AGER (ARNm AGER V₁), siendo este último el responsable del esRAGE. Estos segmentos fragmentados conforman al llamado AGER soluble (sRAGE), el cual se compone únicamente de su porción extracelular. Estos AGER de tipo extracelular representan el tipo sérico más abundante y son capaces de captar diversos ligandos por intercepción, incluso capturar AGEs, impidiendo su interacción con el receptor AGER completo. A partir de lo anterior, se puede suponer que sRAGE ejerce un papel de protector natural al representar un bloqueo de AGER hacia AGEs, volviendo imposible su activación y consecuente cascada de señalización perjudicial por acción de la vía AGE-AGER (50).

Contrariamente a la acción del receptor circulante sRAGE, la interacción AGE-AGER en su forma “convencional” ligando con receptor completo genera la activación del eje del mismo nombre, el cual está implicado en la regulación de diversos eventos celulares por medio del desencadenamiento de varias cascadas de señalización. El receptor AGER, una vez se activa, induce la cascada de fosfatidilinositol 3 quinasa (P13K), la cual, mediante la fosforilación de la enzima quinasa B (AKT) desemboca en la activación de la vía de mTOR, proteína implicada en la hipertrofia, atrofia y autofagia; dicha vía de P13K tiene, como uno de sus principales efectos río abajo, la activación del factor nuclear potenciador de las cadenas ligeras kappa de las células B activadas (NF- κ B). NF- κ B es capaz de acoplarse a la región promotora del gen AGER promoviendo su expresión, de modo que la activación de la vía AGE-AGER estimula la expresión de AGER, favoreciendo el ciclo de activación de la vía. Esta podría ser la razón de que el gen AGER se ve expresado al alza en los tejidos donde existe una acumulación a la alza de AGEs. Del mismo modo, NF- κ B se acopla a la región promotora del gen Glioxalasa I, suprimiendo su expresión, teniendo como efecto una acumulación de AGEs pues el papel de la glioxalasa I es la disminución de los niveles de AGEs catalizando la conversión de sus

precursores en lactato. Es por lo anterior que la activación del receptor AGER promueve además la producción y acumulación de AGEs, preservando el estado activo de la vía (51).

Además de los efectos mencionados anteriormente, la activación de AGER por sus ligandos estimula la activación de la NADPH oxidasa, promoviendo la generación de especies reactivas de oxígeno (ROS). Esta producción de ROS promovida por la activación de la vía AGE-AGER estimula la proliferación celular mediante la activación de la vía JAK-STAT y la migración de estas al activar las GTPasas de la familia Rho, CDC42 y RAC. La activación de AGER promueve un fenotipo característico de un contexto proinflamatorio, esto lo logra induciendo la secreción de citoquinas que reclutan células con actividad inflamatoria mediante la activación de la cascada de NF- κ B, además de propiciar un estado cíclico que retroalimenta constantemente la activación de la vía AGE-AGER (50, 52).

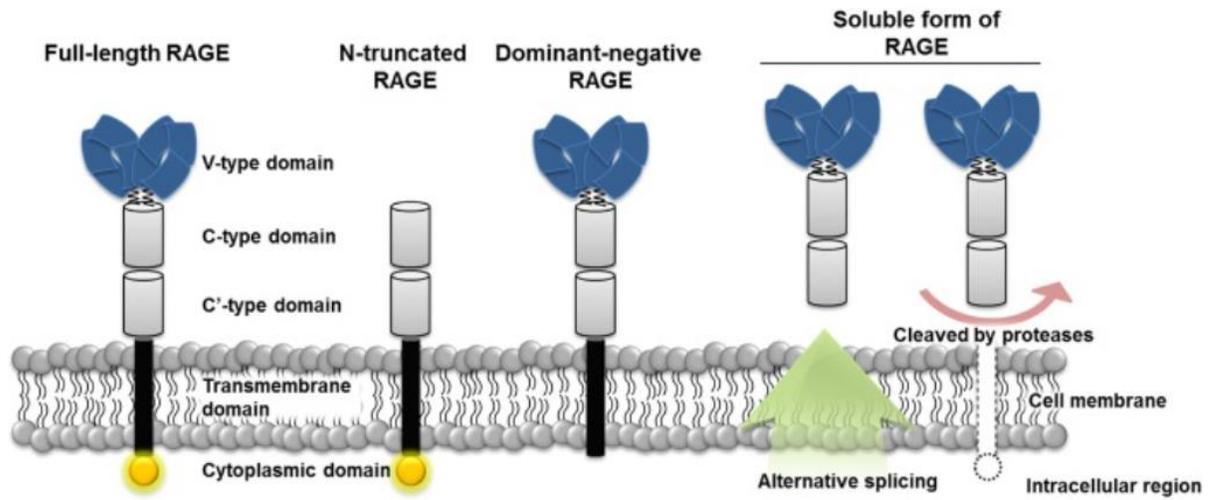


Figura 8. Isoformas del receptor AGER y su estructura.

Tomada de EJ Lee y JH Park (49).

3.5. Vía AGE-AGER

El reconocimiento de diversa variedad de AGEs por parte de los receptores específicos ubicados en la membrana celular estimula la activación de diferentes vías de señalización. Su receptor más estudiado, conocido como AGER, es un receptor de tipo transmembrana multiligando perteneciente a la superfamilia de las inmunoglobulinas cuya activación es de vital importancia en los procesos de respuesta inflamatoria y la disfunción del sistema inmune. Como se mencionó, los AGEs no son los únicos ligandos capaces de ser captados por el receptor AGER, este también puede reconocer ligandos tales como las proteínas de alta movilidad HMGB1, las calgranulinas S100 y el péptido β -amiloide implicado en la enfermedad de Alzheimer (53).

La activación de la llamada vía AGE-AGER puede resumirse en la transducción de señales mediante 4 vías: JAK2-STAT1, PI3K-AKT, MAPKERK y la vía NADPH. Todas estas vías convergen en la producción de NF- κ B fosforilado el cuál desempeña su función ingresando al núcleo favoreciendo la expresión de citoquinas proinflamatorias y profibróticas, factores de crecimiento y estrés oxidativo. Como consecuencia, la activación de la vía AGE-AGER transduce señales que favorecen un estado inflamatorio y fibrótico que inducen al daño celular; el resumen de estas vías y sus efectos se muestran en la Figura 9 (53, 54).

3.5.1. Efectos Patológicos de la Activación de la Vía AGE-AGER

Se han publicado diversos estudios que reportan la repercusión negativa a la salud que genera la activación de la vía AGE-AGER; Van der Lugt y colaboradores (55), demostraron que los AGEs exógenos (provenientes de la dieta) podrían ser capaces de inducir la secreción de TNF- α por parte de células fagocíticas para la generación de más AGEs. Este dato propone que dichos AGEs quizá actúen como una especie de potenciador de la respuesta inflamatoria al

activar grupos celulares como los macrófagos. Estudios similares reportaron de la misma manera que se manifiesta un incremento en la producción de IL-6 por parte de células fagocíticas, gracias a la activación de las vías río debajo de NF-κB y p50 transducidas mediante la vía de las proteínas cinasas activadas por mitógenos (MAPK-ERK) y el segundo mensajero MyD88.

3.5.1.1. Efectos de AGEs sobre la degeneración macular asociada a la edad (DMAE)

DMAE es una de las principales enfermedades que amenazan la visión de los ancianos y pacientes con DMT2, por lo que no ha sido ajena al interés de la comunidad científica al querer evaluar la repercusión de los AGEs en la misma. Anand Babu y colaboradores (56) demostraron que los AGEs eran capaces de actuar como un metabolito prooxidante que induce la secreción de citoquinas proinflamatorias como IL-6, IL-8 y el factor de crecimiento de células endoteliales vasculares (VEFG) en las células epiteliales del pigmento retiniano humano. La posible consecuencia de la liberación de estas citoquinas es que sean responsables de la infiltración de macrófagos característica de las complicaciones oculares de tipo microvascular; de nuevo mediante la estimulación de estrés oxidativo, la inflamación, la quimiotaxis y la neovascularización para desembocar finalmente una degeneración macular.

En la Figura 10 se resumen los efectos patológicos de la interacción AGE-AGER en células relacionadas con el sistema inmunitario, fibroblastos y células pigmentadas de la retina en la mediación de la patología relacionada con AGEs.

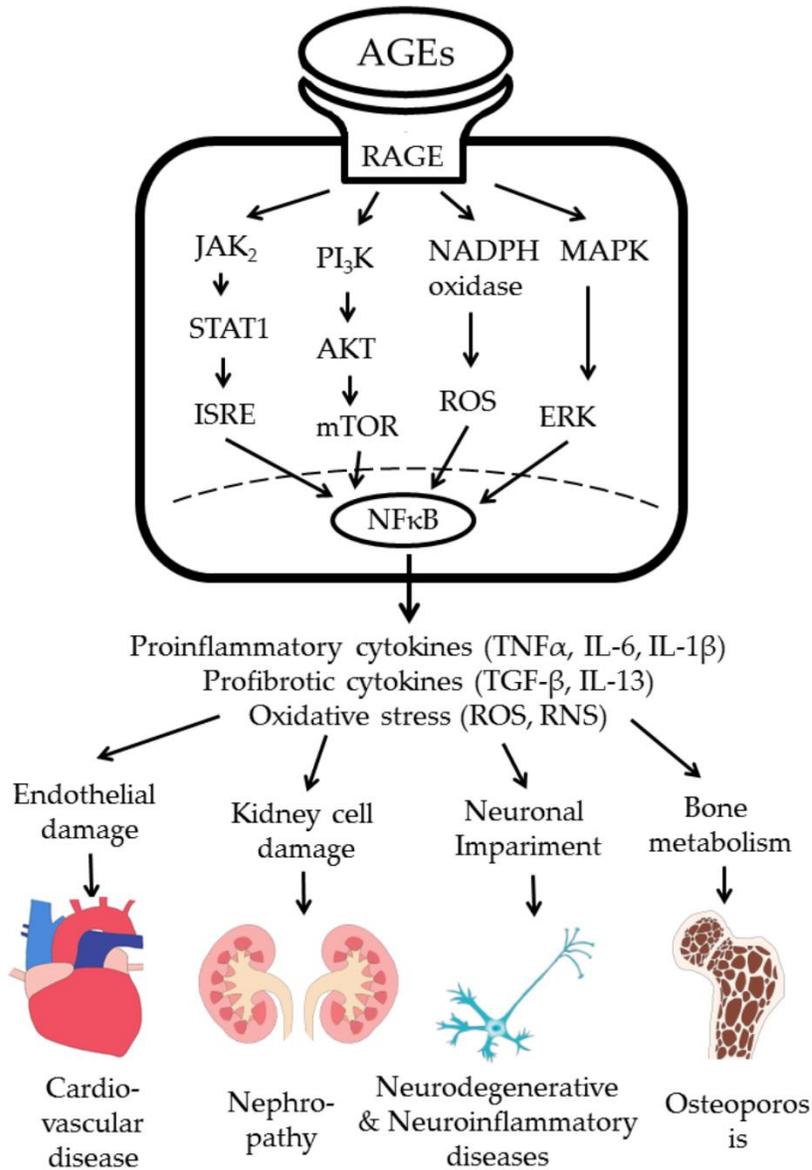


Figura 9. La interacción AGE-AGER en células relacionadas con el sistema inmunitario transduce señales para expresiones génicas de citocinas proinflamatorias y profibróticas, y aumenta el estrés oxidativo para inducir daño celular y tisular. ISRE: elemento de respuesta estimulada por interferón; ROS: especies reactivas de oxígeno; RNI: intermedios de nitrógeno reactivo. Tomado de Shen C-Y, *et al.* 2020 (57).

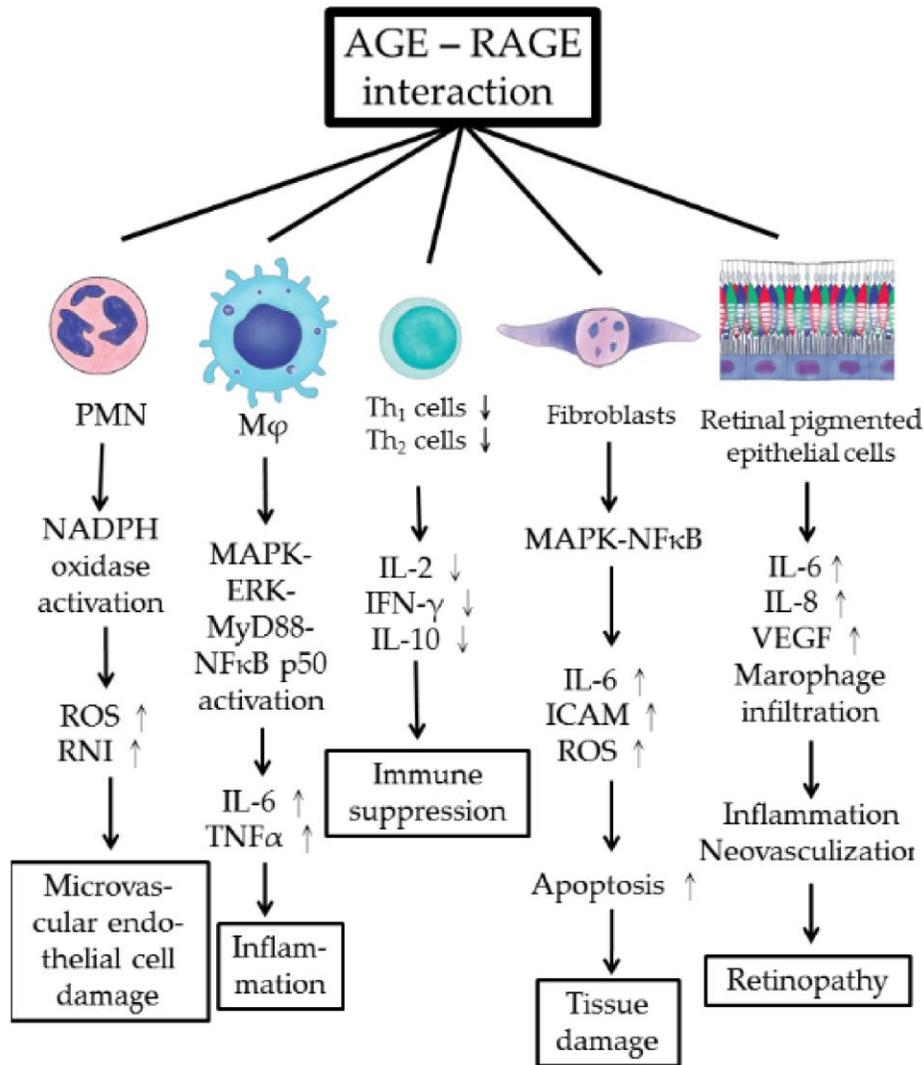


Figura 10. Patogénesis celular y molecular de la activación del eje AGE-AGER para inducir daño celular endotelial microvascular, inflamación tisular, disfunción inmunitaria, fibrosis tisular y retinopatía. RPEC: célula epitelial pigmentada de la retina; ROS: especies reactivas de oxígeno; RNI: intermedios de nitrógeno reactivo; ICAM: molécula de adhesión intercelular; VEGF: factor de crecimiento de células endoteliales vasculares. Tomado de Shen C-Y, *et al.* 2020 (57).

3.6. Gen AGER y sus polimorfismos

El gen que codifica para AGER (identificado por primera vez en 1994) está ubicado en el cromosoma 6p21.3 en la unión de clase II/III del locus del complejo mayor de histocompatibilidad y se conforma por una región flanqueante 5' que comienza en la posición -505 (midiendo 1,7 kb), dicha región se encuentra superpuesta con el gen para PBX2; el gen AGER contiene 11 exones, 10 intrones y una UTR 3' (58). La región en donde se ubica el gen AGER es de naturaleza altamente polimórfica pues está en la misma región que el MHCIII, la cual es la región con más alta densidad génica del cromosoma 6. Hasta la fecha, se han identificado numerosas variantes genéticas en el gen AGER y la mayor parte de ellas se caracterizan por ser polimorfismos de un solo nucleótido (SNP) (59). En la figura 11 se muestran las principales variantes genéticas del gen AGER.

Un polimorfismo se define como un sitio específico en la secuencia de ADN en el cual se manifiesta una variación la cual debe estar presente por lo menos en el 1% de la población que se está analizando. De tal manera que podrían existir dos o más variantes en tal secuencia específica de ADN, variando entre poblaciones (60). Hasta la fecha han sido aproximadamente 30 los polimorfismos reportados que ocurren en las dimensiones del gen AGER. Los estudios realizados con respecto a las implicaciones que podrían tener estos polimorfismos reportan su participación en diversas patologías como lo son diabetes, promoción de un estado crónico inflamatorio y amplificación de la respuesta inflamatoria, algunos tipos de cáncer como gástrico o pulmonar de células pequeñas, entre muchas otras. En lo que compete a este estudio, nos enfocaremos en analizar 3 de los principales SNP's que se han reportado en la literatura: rs1800624, rs1800625 y rs2070600 (61).

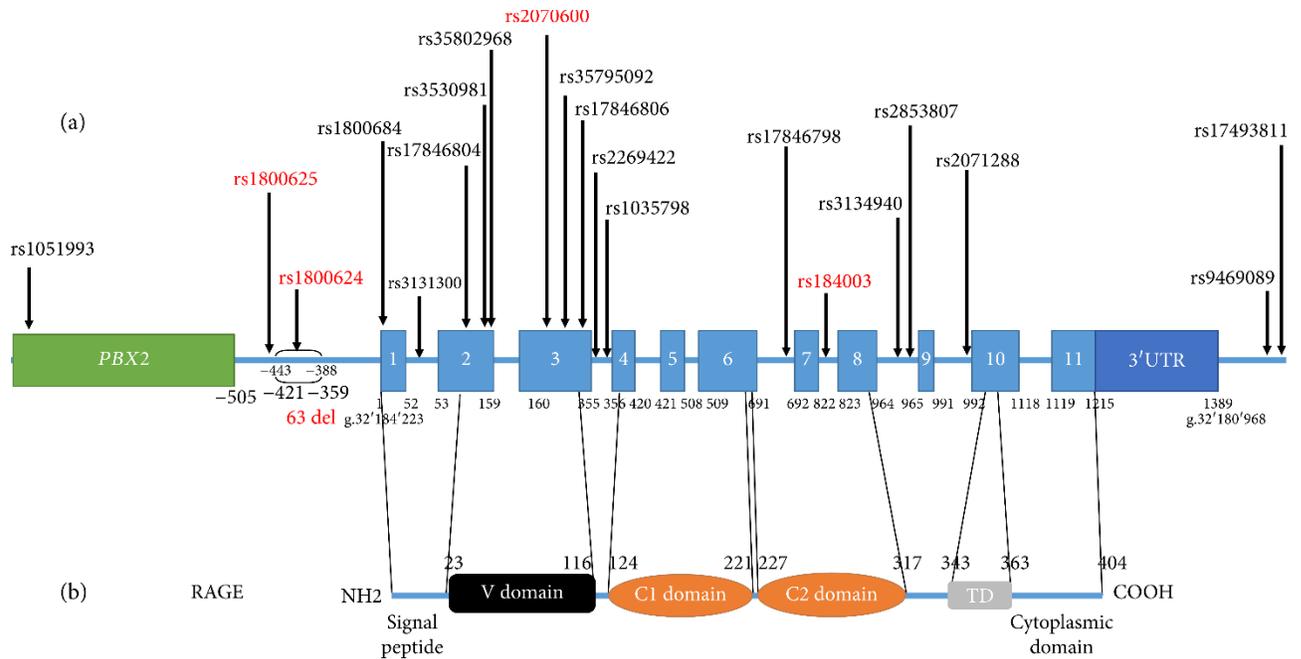


Figura 11. Representación del transcrito predominante del gen AGER humano con los principales polimorfismos estudiados.

Señalización de los polimorfismos y deleciones que tienen lugar en el gen AGER y la posición que ocupan dividida por exones. Modificada de Serveaux-Bailarina *et al.* Pathological implications of receptor for advanced glycation end-product (AGER) gene polymorphism. Disease markers. 2019 (61).

Rs1800624

Este SNP es denominado frecuentemente en la literatura como -374 T>A y se encuentra en el promotor del gen *AGER*. El SNP rs1800624 está reportado como un potenciador de la actividad transcripcional del gen *AGER* en ensayos *in vitro* al influir en la afinidad de unión al sitio del factor de transcripción (62). Esto podría suponer la repercusión de rs1800624 en la regulación transcripcional de *AGER* y su consecuente influencia en la patología de enfermedades de tipo inflamatorio o las complicaciones vasculares derivadas de diabetes (63).

Respecto a las patologías con las que se ha descrito una relación con rs1800624 se encuentran diversos tipos de cáncer; una frecuencia de este SNP se asoció de forma positiva con un mayor riesgo de desarrollo de cáncer de tipo pulmonar y de mama según un metaanálisis (64).

También se ha evaluado su repercusión en pacientes diabéticos; un estudio en pacientes con DMT2 realizado con muestras de población de Malasia con y sin RD reportó que la frecuencia de este SNP entre estos grupos y subgrupos no arrojó diferencias significativas con respecto a los controles. Por otra parte, dos estudios realizados en población caucásica reportaron que existía una asociación de rs1800624 con la incidencia de RDP, sin embargo, estudios similares realizados en población de Asia describieron resultados opuestos (63). En otros estudios rs1800624 se ha reportado inclusive como protector potencial para complicaciones de tipo vascular en contexto de DMT2 en población caucásica (65).

Rs1800625

Reportado como uno de los 5 principales SNP de *AGER*, rs1800625 es un cambio de nucleótido ubicado en la posición -429 de la región promotora de dicho gen. Se le denomina con frecuencia como -429T>C. Se hipotetiza que el origen de este se remonta a la región de

África y su distribución se debe a los contingentes migratorios de humanos que se trasladaron de la zona (62, 66). Se le reporta, al igual que al rs1800624, como un potenciador de la transcripción de AGER en ensayos in vitro por lo que repercute en una expresión a la alza del receptor; esto sugiere su posible influencia en la patogénesis de enfermedades inflamatorias (67, 68). También se ha descrito este SNP en asociación con un incremento en la expresión de sRAGE y esRAGE (59).

Se ha estudiado al rs1800625 en distintos tipos de cáncer; se reportó su implicación en la patogénesis de cáncer pancreático y su consecuente metástasis, ya que su expresión se asoció en concordancia con la capacidad metastásica de las células de cáncer pancreático en experimentos in vitro, sin embargo, rs1800625 no tiene implicación en la patogénesis del mismo (69). De igual modo, este SNP se ha reportado en relación positiva con una susceptibilidad mayor al desarrollo de cáncer pulmonar, más no al cáncer de mama (64).

Existe una gran cantidad de estudios de rs1800625 en contexto de diabetes, sin embargo, reportan contradicciones en sus resultados. En primera instancia, este polimorfismo se reportó asociado con el desarrollo de insuficiencia renal crónica en un estudio indio de pacientes con DM2 (70). Del mismo modo, rs1800625 se relacionó con la presencia de RI (71, 72). Además, un estudio realizado en Brasil reportó una doble incidencia de rs1800625 en su grupo de pacientes con DM (73). Un estudio más describió un aumento en los niveles de HbA1c en sujetos que presentaban el rs1800625 en contexto de DM1 y además su vinculación con RI en individuos sanos (59). Sin embargo, existen estudios con resultados que resultan contradictorios a los anteriores; un estudio realizado en mujeres con diabetes gestacional reportó que no encontraron asociación del polimorfismo con el fenotipo (74). En un estudio en población brasileña, este SNP no se encontró asociado a ningún tipo de complicación derivada de diabetes (75). Aunado a lo anterior, diversos metaanálisis no fueron capaces de encontrar una asociación

significativa de este SNP con un incremento en el riesgo a desarrollar DMT2, RD o nefropatía diabética (76-78).

Rs2070600

Nombrado también como Gly82Ser, este polimorfismo es el más reportado del gen *AGER*. El SNP rs2070600 está localizado en el exón número 3 del gen y se trata de una variación sin sentido que involucra el cambio del aminoácido glicina por serina en el codón número 82 del transcrito del receptor (61). Este polimorfismo está ubicado en el exón correspondiente al dominio V de la proteína *AGER*, fundamento que da las bases para suponer una potencial influencia en la función del receptor (79).

Diversos estudios se han concentrado en ahondar en las implicaciones de rs2070600; dichos estudios han evaluado su papel en enfermedades inflamatorias, cáncer, cardiopatías, enfermedades pulmonares, etc. Sin embargo, se reportan algunos resultados contradictorios entre sí. Existe evidencia que sugiere una frecuencia significativa de este SNP con el desarrollo de artritis reumatoide (80). De igual modo, existe el reporte de que este polimorfismo genera una disminución de sRAGE en infantes en cuadros de enfermedades autoinmunes como Kawasaki o artritis idiopática juvenil de inicio sistémico (81). El rs2070600 también se ha evaluado en pacientes con DM; un estudio con población india mostró relaciones significativas de este polimorfismo con RD en contexto de DMT2 (82). Asociaciones entre rs2070600 y RD en otras poblaciones como chinos y demás estudios indios también figuran entre la evidencia más contundente del SNP en pacientes con DMT2 (83). Estudios en población latinoamericana son necesarios para evaluar la posible asociación de la presencia de este SNP con el desarrollo de DMT2 y/o el grado de sus complicaciones derivadas.

3.7. Antecedentes

3.7.1. Papel del receptor AGER en la retinopatía diabética (RD)

Se han publicado diversos estudios en los que se buscó dilucidar el papel de la vía AGE-AGER en distintos contextos de desorden metabólico y sus complicaciones pertinentes. Entre estos estudios, existen publicaciones que investigaron el papel del receptor AGER en la progresión de la RD.

McVicar *et al.* (84) en 2015 llevaron a cabo un estudio en ratones donde se buscó el definir concretamente qué función desempeñaba el receptor AGER en la patología vasodegenerativa de la retina en un contexto de diabetes. El estudio fue realizado en ratones a los cuales se les indujo diabetes mediante la administración de estreptozotocina. Se definieron 4 grupos diferentes: diabéticos y no diabéticos de tipo salvaje (WT) y diabéticos y no diabéticos de tipo *AGER knockout -/-* (ratones con el gen AGER suprimido). Midieron los niveles de glucosa en sangre, hemoglobina glicosilada (HbA_{1c}) y los niveles retinales de metilglioxal (MG) (biomarcador de daño celular). Los resultados que obtuvieron fueron una expresión retinal de AGER aumentada en ratones diabéticos WT y una menor acumulación de MG en ratones *AGER -/-* en comparación a los WT. Los ratones diabéticos *AGER -/-* mostraron significativamente menor vasopermeabilidad, leucostasis y activación microglial con valores de p que iban desde <0.05 al < 0.001. Concluyeron que los ratones diabéticos con el gen AGER suprimido poseían protección frente a lesiones retinales, especialmente aquellas relacionadas con las respuestas inflamatorias; entendiendo así que la inhibición de AGER podría ser una opción terapéutica para prevenir la RD.

Por otra parte, Ramzi Amin *et al.* (85) en el 2017 publicaron un estudio donde se evaluó la repercusión que tendría la inhibición del receptor AGER (mediante un anticuerpo) en la

protección y mejora del desarrollo de RD. Este estudio involucró el uso de 30 ratones Wistar macho que fueron divididos en 5 grupos de estudio diferentes: control, grupo con RD sin tratamiento y 3 grupos con RD en los cuales únicamente variaba la dosis por peso que se le administraba a los murinos (1 ng/kg, 10 ng/kg y 100 ng/kg de peso corporal). La metodología involucraba la toma de fotografías de fondo de ojo cada semana y la medición de glucosa y HbA1c, además de TNF- α retinal y VEGF mediante ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA). Los resultados obtenidos fueron una disminución significativa de los niveles de HbA1c en los grupos de ratones RD+anti-AGER en comparación con los ratones del grupo RD sin tratamiento ($p < 0.05$), así como un diámetro medio de los vasos sanguíneos menor en los grupos administrados con 10 y 100 ng/kg del anticuerpo ($p < 0.05$). También la administración de este, en esos mismos niveles, mostró la capacidad de reducir de forma significativa los niveles de VEGF en comparación al grupo control ($p < 0.05$).

3.7.2. Polimorfismos del gen AGER en RD

Se han reportado una cantidad considerable de estudios referentes a polimorfismos identificados y/o comparados entre sí del gen AGER; en esta sección se describen aquellos estudios que estudiaron los polimorfismos de relevancia para la realización de esta tesis.

rs1800625

En el año 2001 Hudson *et al.* (86) realizaron el primer estudio que buscó identificar la posible asociación entre polimorfismos y la retinopatía diabética. En este, el equipo británico utilizó muestras de sangre provenientes de pacientes diagnosticados con DMT2 en comparación con muestras de pacientes que padecían RD en población procedente de Inglaterra, obteniendo una n correspondiente a 215 (106 y 109, respectivamente para cada grupo), el grupo control estuvo conformado por 113 pacientes sin ninguno de los padecimientos de interés. El análisis

mediante PCR arrojó 8 polimorfismos y deleciones que se encontraban superponiéndose sobre la región UTR del gen PBX2, y alrededor de 23 polimorfismos/deleciones que se encontraban en la región promotora del gen AGER. Entre estas últimas se encontró a rs1800625, polimorfismo localizado en la posición -429, del cual se obtuvieron 3 diferentes tipos: TT (66.5%), TC y CC (33.5%). Las frecuencias de cada genotipo en cada uno de los grupos fueron de 56.6 RD, 73.3 DMT2 y 66.4 en controles para TT, y 43.4, 24.7 y 33.6 respectivamente para TC/CC ($p = 0.012$). Los resultados anteriores llevaron a la conclusión de que el alelo C del polimorfismo -429 estaba relacionado con la retinopatía diabética en pacientes con DMT2.

En el año 2021 se publicó un estudio de la autoría de Qayyum *et al.* (87) en el cual se investigó la asociación entre el polimorfismo T/C rs1800625 y la retinopatía diabética, así como los niveles séricos de sRAGE en pacientes con DMT2. Se trató de un estudio de casos y controles el cual tuvo una n de 450 sujetos de origen pakistaní divididos en 3 grupos de 150; el grupo A estaba conformado por controles, el B por sujetos con DMT2 y el C lo conformaron sujetos con RD. Se identificaron 3 tipos diferentes de polimorfismos: TT, TC y CC. Las frecuencias obtenidas de los polimorfismos TT, TC y CC que se encontraron fueron 137 (91.3%), 10 (6.7%) y 3 (2%) en el grupo A; 133 (88.6%), 13 (8.7%) y 4 (2.7%) en el grupo B; 127 (84.7%), 18 (12%) y 5 (3.3%) en el C. No se encontró una asociación significativa de T/C rs1800625 entre los grupos B y C ($p > 0.05$). Los niveles de sRAGE estaban elevados en pacientes con RD proliferativa y se correlacionaron de forma positiva con niveles de glucosa en ayunas en el grupo C ($p < 0.05$). Los genotipos TC y CC se asociaron significativamente con niveles elevados de sRAGE y TC con glucosa elevada en el grupo C. El equipo concluyó que T/C rs1800625 estaba asociado con RD no proliferativa grave.

rs1800624

Shazia Qayyum *et al.* en el año 2021 (88) publicaron un estudio más abordando la posible asociación de un polimorfismo en el gen AGER y pacientes con retinopatía diabética de Pakistán. El equipo pakistaní tuvo como objetivo determinar la relación del rs1800624, polimorfismo ubicado en la posición -374 que cambia una timina por una adenina, en 3 diferentes grupos conformados por 150 sujetos cada uno: pacientes con DMT2, pacientes con RD y controles; del mismo modo midieron los niveles séricos de sRAGE. La frecuencia de los genotipos TT, TA y AA del rs1800624 que obtuvieron fueron: 97.2%, 6%, 1.3% en controles; 80%, 17.3%, 2.7% en DMT2 sin RD; y 76.7%, 19.3%, 4.3% en sujetos con RD. El genotipo heterocigoto TA mostró una asociación significativa entre los grupos DMT2 y controles, sin embargo, no detectaron asociación significativa del rs1800624 con RD ni sus subgrupos (RD no proliferativa y RD proliferativa) contra el grupo DMT2. Como conclusiones el equipo reportó que el polimorfismo estudiado podría ser un factor de riesgo para DMT2, más no para retinopatía diabética.

En el año 2003 el equipo de Globocnik Petrovic *et al.* (89) realizaron un estudio donde buscaban la relación entre rs1800624 T/A y rs1800625 T/C y el desarrollo de retinopatía diabética en población caucásica en contexto de DMT2. El estudio involucró una n de 116 sujetos con RD y con 70 sujetos para el grupo de DMT2 sin RD. Como resultados el equipo reportó que las frecuencias de los polimorfismos en pacientes con RD (rs1800625: CC 0.9%, TC 25.9%, TT 73.2%; rs1800624 AA 9.5%, TA 47.4%, TT 43.1%) no mostraron diferencias significativas a las frecuencias del grupo de DMT2 sin RD (rs1800625: CC 0%, TC 25.7%, TT 74.3%; rs1800624: AA 15.7%, TA 42.9%, TT 41.4%). De esta manera concluyeron que no existe asociación de los polimorfismos de estudio con el desarrollo de RD en población caucásica con DMT2.

rs2070600

Un equipo indio conformado por Balasubbu *et al.* (82) en el año 2010 realizó un estudio con el propósito de asociar 9 diferentes genes con el desarrollo de RD en pacientes indios. Entre los genes que estudiaron estaba PEDF, AKR1B1, EPO y AGER. Para el estudio se genotiparon 345 sujetos con RD y 356 con DMT2 sin RD. Los genes que mostraron una asociación positiva en el primer grupo de análisis se probaron adicionalmente con un grupo de 100 RD y 90 DMT2 pacientes provenientes del hospital Aravind Eye. Como resultados obtuvieron que, de los polimorfismos examinados, *rs2070600* mostró una asociación significativa con RD ($p = 0,016$) en comparación con DNR, además de una asociación significativa con RD en la cohorte de confirmación ($p = 0,035$). El equipo concluyó que existe una relación significativa del *rs2070600* con RD en población india en contexto de DMT2.

En el presente año 2023 se publicó un estudio de la autoría de Jehanzeb *et al.* (90) en el cual se buscó evaluar la asociación de 3 polimorfismos de 3 genes diferentes (ARL2, *rs759853*; VEGF, *rs833061*; AGER, *rs2070600*) con el desarrollo de RD en pacientes pakistaníes con DMT2. Se trató de un estudio de casos y controles que involucró 550 sujetos divididos en 3 grupos: 186 con RD, 180 con DMT2 y 184 controles. Los resultados mostraron que el *rs833061* y *rs2070600* exhibieron una asociación significativa con RD en comparación al grupo de DMT2; el *rs759853* no mostró asociación. Como conclusión el equipo reportó una asociación estadísticamente significativa de los polimorfismos estudiados de VEGF y AGER con el desarrollo de RD en contexto de DMT2, recomendando la realización de estudios con mayor tamaño de muestra para robustecer la evidencia.

3.7.3. Niveles de AGEs y sRAGE circulantes en RD

Se han publicado estudios que abordan el análisis y posible correlación entre los niveles séricos de AGEs y el desarrollo y/o severidad de RD; por ejemplo, está el caso de Assad Ghanem *et al.* (91), grupo de trabajo originario de Egipto que en el año 2010 buscó estudiar la potencial asociación existente entre la RD y los niveles de AGEs, particularmente pentosidina y N-cabroximetilisina (CML) en humor acuoso y suero. El estudio ocupó 90 pacientes con DMT2 y un grupo de 30 pacientes no diabéticos; aquellos pacientes diagnosticados con DMT2 fueron divididos en 3 grupos: 30 pacientes con retinopatía leve no proliferativa, 30 con retinopatía no proliferativa, pero en grado severo y 30 pacientes con RD proliferativa. Para la medición de la pentosidina y el CML se utilizó cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) y ELISA, respectivamente. Entre los resultados obtenidos se destacó un nivel sérico de AGEs significativamente incrementado en pacientes con DMT2 comparado con aquellos que no eran diabéticos ($p < 0.001$), además, en pacientes diabéticos los niveles de AGEs séricos estaban significativamente elevados en el grupo de RD proliferativa, en comparación con aquellos con grado leve y severo de RD no proliferativa. También reportaron una diferencia significativa entre los niveles de CML en humor acuoso de diabéticos y controles, y este incrementó con la progresión de la RD, encontrando correlaciones significativas entre los niveles séricos de pentosidina y niveles en humor acuoso de CML en RD severa no proliferativa y RD proliferativa ($p < 0.001$). Con tales resultados el equipo concluyó que las moléculas empleadas en el estudio podrían ser utilizados como biomarcadores de glicoxidación y están relacionadas en la aparición y progresión de la RD.

Mohsen Kerkeni *et al.* (92) en 2012 realizaron un estudio donde se medían tanto AGEs humanos comunes, como específicamente sRAGE y pentosidina; cada uno de ellos en suero y evaluando también si alguno de estos biomarcadores estaba relacionado con la severidad de RD.

El estudio involucró a 30 pacientes control y 100 pacientes diabéticos de los cuales 40 presentaban RD no proliferativa (RDNP) y 60 retinopatía diabética proliferativa (RDP). Los biomarcadores fueron cuantificados mediante ELISA. Como resultados el equipo reportó que los niveles séricos de AGEs, sRAGE y pentosidina estaban significativamente elevados en pacientes diabéticos en comparación con los controles ($p < 0.01$, $p < 0.001$ y $p < 0.001$, respectivamente). Dentro del grupo de diabéticos se reportaron también niveles significativamente más elevados en pacientes con RDP que en aquellos con RDNP ($p < 0.001$, $p < 0.01$ y $p < 0.005$, respectivamente). Finalmente, en el análisis de regresión multivariado se reportó que la duración de la DM y los niveles de pentosidina estaban independientemente asociados con la severidad de la RD.

Tonny Loho *et al.* (93) en 2018 desarrollaron y publicaron otro estudio referente a AGEs y RD. Dicho estudio tuvo como objetivo encontrar la asociación entre los niveles de HbA1c con los niveles vítreos de AGEs y dímero D en pacientes con RD proliferativa. Para conseguir esto el equipo realizó un estudio transversal en pacientes con RD proliferativa que habían sido sometidos a vitrectomía (técnica de microcirugía ocular que se utiliza para extraer el humor vítreo, es decir, el gel transparente que rellena la cámara posterior del ojo). Los pacientes fueron divididos en 2 subgrupos: pacientes con hiperglucemia controlada (HbA1c < 7%) y pacientes con hiperglucemia no controlada (HbA1c > 7%). Se obtuvieron un total de 47 pacientes en el estudio y 32 de ellos eran mujeres. Como resultados el equipo indonesio obtuvo un nivel medio de AGEs vítreos de 11.0 ug/mL, mientras que un nivel medio de dímero D de 5,446 ng/mL, encontrando que el nivel medio de AGEs era significativamente mayor en pacientes con hiperglucemia no controlada contra aquellos de hiperglicemia controlada ($p < 0.001$), sin embargo, no encontraron diferencias significativas en los niveles de dímero D. Con esta

información concluyeron que el nivel de HbAc1 puede ser utilizado para evaluar los niveles de AGEs vítreos en pacientes con RD proliferativa.

IV. JUSTIFICACIÓN

La DMT2 es una de las enfermedades crónicas más prevalentes y altamente relevantes en materia de salud pública a nivel global gracias al intrincado paquete de patologías derivadas. En el continente americano se estima que aproximadamente 62 millones de personas cursan con este trastorno metabólico, número que ha manifestado un aumento de hasta el triple según las estimaciones del año 1980; se prevé que se alcance la cifra de 109 millones de afectados para el año 2040. La diabetes es de este modo una de las principales causas de ceguera, insuficiencia renal, cardiopatías, derrames cerebrales y un extenso etcétera de complicaciones que desembocan en una reducción de la esperanza y/o calidad de vida de los diabéticos. Lo anterior convierte a la DMT2 en la segunda causa de años de vida ajustados por discapacidad en América, gracias a su papel en el desarrollo de todas estas complicaciones limitantes.

Una de las principales complicaciones derivadas de la DMT2 como se mencionó antes es la retinopatía diabética (RD), patología definida como una serie de alteraciones en la microvasculatura ocular originadas por un estado hiperglucémico crónico, el cual conlleva a un daño permanente de la visión cuando no es controlada. El punto de inflexión para el manejo oportuno de la RD es un diagnóstico temprano pues la efectividad del tratamiento radica en su administración en fases iniciales de la enfermedad, previniendo el desarrollo de complicaciones irreversibles. Debido a que la diabetes, y por lo tanto sus complicaciones, es de origen poligénico es importante identificar las alteraciones genéticas que pudieran estar implicadas en la fisiopatología de la RD, de modo que las personas con diabetes puedan anticiparse a un chequeo temprano del tejido ocular en pro de un manejo adecuado. Los resultados de este estudio posibilitarán un avance en el entendimiento de la fisiopatología de la RD y el diagnóstico oportuno de la misma.

V. HIPÓTESIS

Existe una asociación entre la presencia de los polimorfismos rs1800624, rs1800625 y rs2070600 del gen AGER y los niveles séricos de AGEs y sRAGE con el desarrollo de RD en pacientes con DMT2 del noroeste de México.

VI. OBJETIVOS

1.1. Objetivo general

Identificar la presencia de los polimorfismos rs1800624, rs1800625 y rs2070600 del gen AGER, su asociación con los niveles séricos de AGEs y sRAGE con el desarrollo de retinopatía diabética en pacientes con diabetes mellitus tipo 2 en población adulta del noroeste de México.

1.2. Objetivos específicos

1.2.1. Objetivo 1.

Caracterizar a la población de estudio de acuerdo con sus indicadores sociodemográficos, antropométricos, clínicos y bioquímicos.

1.2.2. Objetivo 2.

Determinar la frecuencia de los polimorfismos rs1800624, rs1800625 y rs2070600 del gen AGER en pacientes con y sin retinopatía diabética.

1.2.3. Objetivo 3.

Cuantificar los niveles circulantes de AGEs y sRAGE en los casos y controles seleccionados.

1.2.4. Objetivo 4.

Analizar la asociación entre los polimorfismos del gen AGER con los niveles circulantes de AGEs y sRAGE, y la presencia de retinopatía diabética.

VII. MATERIALES Y MÉTODOS

7.1. Tipo de Estudio

Se realizó un estudio de tipo observacional, transversal de casos y controles, en el cual se incluyeron individuos sanos y pacientes con diagnóstico de diabetes mellitus tipo 2 con y sin retinopatía establecida. Con un tamaño de muestra de 60 individuos mínimo para cada grupo. Todos los grupos fueron divididos a razón de grupo etario entre aquellos que eran menores y mayores a 60 años.

7.2. Población de Estudio

En nuestra población de estudio, fueron incluidos individuos adultos de entre 30-90 años de edad, ambos sexos para conformar los siguientes grupos de estudio:

- Grupo Control: Individuos Sin DMT2 (CTRL)
- Grupo de Pacientes con DMT2 sin retinopatía diabética establecida (DMT2)
- Grupo de Pacientes con retinopatía diabética establecida (RD).

El muestreo del grupo control y de pacientes con DMT2, fue realizado previamente mediante convocatoria a población abierta en el Centro de Investigación Aplicada a la Salud Pública de la Facultad de Medicina. A los participantes se les aplicó cuestionario de datos generales, historia clínica completa, mediciones antropométricas y toma de muestra para análisis bioquímicos y moleculares, esto realizado con previa firma de consentimiento informado según los lineamientos de la declaración de Helsinki (Anexo 1). Respecto al grupo de individuos con retinopatía diabética se acudió al hospital regional 1 Dr. Cárdenas de la Vega perteneciente al Instituto de Seguridad y Servicios Sociales de los Trabajadores del Estado (ISSSTE) a captar pacientes que acudían a consulta a la especialidad de Oftalmología y accedieran a participar en el estudio posterior al abordaje y obtención de consentimiento informado de los mismos.

7.3. Criterios de Selección

Criterios de Inclusión

1. Grupo control

Fueron incluidos sujetos sanos de 30-90 años de edad, ambos sexos, originarios y residentes de los estados que conforman el noroeste de México, sin diagnóstico de DMT2 u otras patologías.

2. Grupo de casos

- Grupo DMT2: Fueron incluidos pacientes de entre 30-90 años de edad con diagnóstico previo de diabetes mellitus tipo 2 de acuerdo con los criterios de la Federación Internacional de Diabetes con glucosa plasmática en ayuno ≥ 126 mg/dl, glucosa a cualquier hora del día ≥ 200 mg/dl o hemoglobina glucosilada (HbA1c) $\geq 6.5\%$; ambos sexos, originarios y residentes de los estados que conforman el noroeste de México, sin diagnóstico de retinopatía diabética establecida.
- Grupo de retinopatía diabética: Se incluyeron pacientes con diagnóstico previo de retinopatía diabética establecida de cualquier grado de severidad, de ambos sexos, originarios y residentes de los estados que conforman el noroeste de México.

Criterios de Exclusión

1. Grupo control

Fueron excluidos pacientes con diagnóstico previo de cualquier tipo de DM u otras patologías.

2. Grupo de casos

- Grupo DMT2: Fueron excluidos pacientes con diagnóstico previo de DMT1.

- Grupo de retinopatía diabética: Fueron excluidos pacientes con cualquier otro tipo de retinopatía o enfermedad ocular.

Criterios de Eliminación

Fueron eliminados del estudio aquellos sujetos que cumpliesen con al menos una de las siguientes condiciones:

- Falta de consentimiento informado
- Falta de información completa en el cuestionario
- Muestra insuficiente

7.4. Diseño experimental

A los grupos de estudio se les realizaron las siguientes acciones y pruebas bioquímicas:

- Aplicación de cuestionario de datos generales
- Historia clínica completa
- Firma de carta de consentimiento informado
- Mediciones antropométricas
- Toma de muestra sanguínea con ayuno de al menos 8 horas para la realización de pruebas bioquímicas y moleculares
- Pruebas bioquímicas:

Para evaluar el estado metabólico de los grupos de estudio se le realizó una prueba de química sanguínea la cual incluía: Glucosa en ayuno, niveles de colesterol total, triglicéridos, y hemoglobina glucosilada.

7.4.1. Extracción de ADN genómico

Se realizó la extracción a partir de leucocitos sanguíneos obtenidos del concentrado leucocitario de la muestra sanguínea posterior a una centrifugación de 10 minutos a 4,000 rpm mediante el KIT comercial de extracción QIAamp® 96 DNA Blood para células nucleadas.

7.4.2. Integridad del ADN

Para medir la concentración y pureza del ADN se utilizó 1uL de muestra en la punta de lectura del espectrofotómetro micro-volumen Nanodrop®. Los parámetros para cuantificación de concentración y pureza fueron los siguientes:

- Concentración: arriba de 50 puntos.
- Relación 260/280 (Absorbancia de ácidos nucleicos): 1.7 – 2 puntos.
- Relación 260/230 (Pureza): 1.9 – 2.2 puntos

7.4.3. Dilución de ADN y q-PCR

Se realizaron diluciones del ADN a una concentración de 10 µg en 50/µl en microtubos de 1.5ml previamente rotulados con agua grado biología molecular, para determinar la cantidad de ADN a utilizar para la dilución se utilizó la siguiente formula:

$$\underline{C1V1 = C2V2}$$

C1= concentración inicial de ADN

V1= volumen de la muestra inicial

C2= concentración final de ADN

V2= volumen final tras la dilución

Para la genotipificación de los polimorfismos a través del método de la reacción en cadena de Polimerasa en tiempo real (q-PCR) se utilizaron sondas TaqMan marcadas con un colorante indicador fluorescente (VIC®) y (FAM®) para la diferenciación alélica.

El volumen de reacción de los ensayos fue de 5 μ l por pocillo. Para cada ensayo se añadieron 2.4 μ l de la muestra de ADN, 2.5 μ l de Mastermix, y 0.1 μ l de sondas. La reacción se llevó a cabo en un termociclador modelo StepOnePlus de la marca Applied Biosystems con las siguientes condiciones de reacción:

- STAGE 1: 95°C por 10 minutos
- STAGE 2: 95°C por 15 segundos y 60°C por 1 minuto, repitiendo por 40 ciclos.
- STAGE 3: 60°C por 30 segundos.

7.4.4. Cuantificación de Niveles de AGES y sRAGE

Cuantificación de AGES séricos

Para realizar la cuantificación de AGES fluorescentes presentes en suero se prepararon diluciones en relación 1:40 con buffer PBS 1X. Una vez realizadas las diluciones se procedió a cuantificar la fluorescencia de las muestras mediante un lector de placas de la marca TEKAN f200 con una calibración de 370 nm de emisión y 455 nm de excitación, obteniendo así las llamadas unidades arbitrarias de fluorescencia (UAF). Posteriormente a la medición de fluorescencia se midió la cantidad de proteína de las muestras utilizando el kit de proteína PIERCE 600 nm, lo cual permitió obtener la concentración de proteína total de las muestras mediante un espectrofotómetro para evaluar densidad óptica. Teniendo estos 2 datos se calculó la relación de UAF entre la cantidad de proteína total de las muestras, obteniendo así las concentraciones séricas de AGEs fluorescentes.

ELISA (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay) para cuantificación de sRAGE

Preparación de la placa

1. Se diluyó el Anticuerpo de Captura (A. C) a la concentración de trabajo en PBS 1X sin proteína. Se recubrió inmediatamente una microplaca de 384 pocillos con 50 μ L por pocillo del anticuerpo de captura diluido.

Se selló la placa e incubó toda la noche a temperatura ambiente.

2. Se aspiró cada pocillo y se realizó un lavado con Tampón de Lavado (Tween 20 0.05% + PBS 1X), repitiendo el proceso dos veces para un total de tres lavados. Se lavó llenando cada pocillo con tampón de lavado (110 μ L). Después del último lavado, se eliminó cualquier resto de tampón de lavado por aspiración o invirtiendo la placa y secándola contra toallas de papel limpias.
3. Se bloquearon las placas añadiendo 100 μ L de diluyente de reactivo (R. D) (BSA 1% + PBS 1X) a cada pocillo. Se incubó a temperatura ambiente durante un mínimo de 1 hora.
4. Se repitió la aspiración/lavado como en el paso 2.

Procedimiento de ensayo

1. Se añadieron 50 μ L de muestra ya sea suero, estándares en diluyente de reactivo (curva estándar), o un diluyente (control/blanco) por pocillo.

Se cubrió con una tira adhesiva e incubó 2 horas a temperatura ambiente.

2. Se repitió la aspiración/lavado como en el paso 2 de Preparación de la placa.
3. Se añadieron 50 μ L del anticuerpo de detección (A. D), diluido en diluyente de reactivo, a cada pocillo.

Se cubrió con una nueva tira adhesiva e incubó 2 horas a temperatura ambiente.

4. Se repitió la aspiración/lavado como en el paso 2 de Preparación de la placa.
5. Se añadieron 50 μ L de la dilución de trabajo de estreptavidina-HRP a cada pocillo.

Se cubrió la placa e incubó durante 20 minutos a temperatura ambiente.

6. Se repitió la aspiración/lavado como en el paso 2.
7. Se añadieron 50 μL de solución de sustrato (1:1 Reactivo A y B) a cada pocillo.

Se incubó durante 20 minutos a temperatura ambiente.

8. Se añadieron 25 μL de solución de parada (Ácido sulfúrico 2 N) a cada pocillo.
Golpeando suavemente la placa para asegurar una mezcla completa.
9. Se determinó inmediatamente la densidad óptica de cada pocillo, utilizando un lector de microplacas ajustado a 450 nm.

7.4.5. Análisis Estadístico

El análisis estadístico se realizó utilizando el paquete estadístico SPSS de IBM para Windows versión 20 y el software de programación para lenguaje en R llamado RStudio. De forma inicial se determinó si los datos provenientes de los grupos de estudio obedecían el supuesto de normalidad mediante una prueba de Kolmogórov-Smirnov, posteriormente se calcularon medias \pm desviación estándar para la estadística descriptiva de dichos datos. Se identificaron las diferencias de medias mediante una prueba de T-student para muestras independientes para las comparaciones entre 2 grupos y ANOVA de una vía para aquellas que involucraban 3 grupos. Las diferencias de medianas se determinaron mediante la prueba de U de Mann-Whitney para las comparaciones entre 2 grupos y una H de Kruskal-Wallis para diferencias entre 3 grupos.

Para los análisis de polimorfismos se generó una segmentación alternativa de la población de estudio, organizando a esta en 2 subgrupos únicamente definidos en función a la presencia o ausencia de retinopatía diabética, esto con el propósito de ejecutar dichos análisis con mayor certeza y precisión. Se determinaron OR y se determinó el equilibrio de Hardy-

Weinberg en las frecuencias genotípicas y alélicas en las poblaciones estudiadas por medio de una prueba de chi-cuadrado (χ^2), considerando que no existe diferencia estadística con un p-valor >0.05 , entre los valores esperados y los observados. Se realizaron distintos modelos de herencia con el fin de ahondar en las posibles asociaciones de los polimorfismos estudiados con la presencia de retinopatía diabética. Finalmente se realizó un análisis de regresión logística múltiple para establecer las asociaciones entre los polimorfismos de AGER, los niveles circulantes de AGEs y sRAGE, y las principales variables antropométricas y bioquímicas. Valores de $p < 0.05$ serán considerados como estadísticamente significativos.

VIII. RESULTADOS

8.1. Población de estudio

Con en el propósito de determinar los niveles séricos de AGEs fluorescentes, así como el receptor soluble AGER, y su relación con el genotipo del gen AGER en población con retinopatía diabética se ejecutó un estudio donde se consideraron adultos de entre 30 y 90 años con y sin diagnóstico de retinopatía diabética establecida.

La población total, constituida por 233 individuos, se dividió en 3 grupos: CTRL (n=84), DMT2 (n=86) y RD (n=63). Dichos grupos fueron a su vez clasificados en función del grupo etario al que pertenecían, obteniendo de esta manera 6 subgrupos: AJ CTRL: (n= 42), AJ DMT2: (n=40), AJ RD: (n=23), AM CTRL: (n=42), AM DMT2: (n=46) y AM RD: (n=40).

La población de estudio fue caracterizada según los datos generales obtenidos de la historia clínica (Cuadro 1). La edad promedio para los subgrupos de AJ fue de 48.55 ± 9 , con un mayor porcentaje (61.9 %) del sexo femenino; para el caso de los subgrupos del conjunto AM la edad promedio fue 66.59 ± 5.15 , coincidiendo con mayor porcentaje (69.5 %) del sexo femenino.

Cuadro 1. Características generales de los grupos AJ y AM

	GRUPOS AJ	GRUPOS AM
	n (%)	n (%)
Edad (años)	48.55 ± 9	66.59 ± 5.15
Sexo		
Femenino	65 (61.9%)	89 (69.5)
Masculino	40 (38.1%)	39 (30.5)

AJ, Adulto joven; AM, Adulto mayor.

8.2. Caracterización antropométrica

Con el objetivo de caracterizar e identificar factores referentes a la antropometría que pudiesen estar en condiciones alteradas en la población de estudio se tomaron en cuenta variables como estatura, IMC, perímetro de cintura, ICC y nivel de grasa corporal (Cuadro 2). Las comparaciones de medias se realizaron entre los subgrupos pertenecientes a un mismo grupo etario con el fin de evitar posibles sesgos.

El análisis de las diferencias entre las medias de los grupos se realizó mediante una ANOVA de un factor, encontrando diferencias significativas entre los 3 subgrupos para las 5 variables consideradas en la caracterización antropométrica. De forma particular, se encontraron valores significativamente mayores en los individuos pertenecientes al grupo AJ RD con respecto a aquellos del grupo AJ CTRL en las variables de edad, IMC, perímetro de cintura e ICC ($p < 0.001$). Por otro lado, se observaron valores significativamente elevados en el nivel de grasa corporal en el subgrupo de AJ RD en comparación al grupo AJ DMT2 ($p = 0.047$).

Cuadro 2. Datos antropométricos de los subgrupos AJ CTRL, AJ DMT2 y AJ RD.

	AJ CTRL	AJ DMT2	AJ RD	P
Edad (años)	42 ± 10.4	52.5 ± 5.9	55 ± 5.6	< 0.001 ^a
IMC	26.81 ± 4.62	31.33 ± 4.98	31.35 ± 5.81	< 0.001 ^a
Grasa corporal	34.64 ± 7.91	38.2 ± 8.41	33.47 ± 7.40	0.047 ^b
Perímetro de cintura	84.74 ± 11.68	100.75 ± 11.71	107.25 ± 16.54	< 0.001 ^a
ICC	0.82 ± 0.07	0.94 ± 0.09	0.97 ± 0.09	< 0.001 ^a

AJ CTRL, Adulto joven control; AJ DMT2, Adulto joven Diabetes mellitus tipo 2; AJ RD, Adulto joven retinopatía diabética; IMC, índice de masa corporal; ICC, índice de cintura cadera; ^a: diferencia significativa entre los grupos CTRL y RD (< 0.05); ^b, diferencia significativa entre los grupos DMT2 y RD (< 0.05). Valores representados como media ± desviación estándar.

Respecto al análisis de las variables antropométricas de los subgrupos AM (Cuadro 3) se apreciaron diferencias significativas en los rangos de IMC entre los 3 subgrupos, siendo la diferencia concreta observada entre el grupo AM RD con respecto a los controles ($p < 0.001$). Los niveles de grasa corporal mostraron una disminución significativa en el subgrupo de AM RD, presentando una mayor brecha diferencial con respecto al grupo AM DMT2 ($p = 0.001$). La variable de ICC mostró valores semejantes entre los subgrupos de sujetos con diabetes AM DMT2 y AM RD), sin embargo, en la comparación total de los subgrupos se apreciaron diferencias significativas, resaltando de igual modo que los valores de los subgrupos de sujetos con diabetes se hallaban en discordancia con respecto a los grupos controles ($p < 0.001$).

Cuadro 3. Datos antropométricos de los subgrupos AM CTRL, AM DMT2 y AM RD

	AM CTRL	AM DMT2	AM RD	P
Edad (años)	66 ± 5.8	66 ± 4.8	65 ± 4.74	0.302
IMC	25.9 ± 3.59	29.74 ± 4.37	29.91 ± 4.99	< 0.001^a
Grasa corporal	38 ± 5.82	41.6 ± 7.87	32.75 ± 9.55	0.002^b
Perímetro de cintura	84.25 ± 9.86	95.3 ± 10.79	98 ± 10.18	< 0.001^a
ICC	0.86 ± 0.08	0.92 ± 0.07	0.93 ± 0.05	< 0.001^a

AM CTRL, Adulto mayor control; AM DMT2, Adulto mayor Diabetes mellitus tipo 2; AM RD, Adulto mayor retinopatía diabética; IMC, índice de masa corporal; ICC, índice de cintura cadera; ^a: diferencia significativa entre los grupos CTRL y RD (< 0.05); ^b, diferencia significativa entre los grupos DMT2 y RD (< 0.001). Valores representados como media ± desviación estándar.

8.3. Caracterización bioquímica

La caracterización del perfil bioquímico se realizó evaluando los niveles de glucosa sérica, colesterol total, triglicéridos y hemoglobina glicada. De forma similar a las variables antropométricas las comparaciones entre la población de estudio se realizaron entre grupos del mismo grupo etario.

Las concentraciones de glucosa, triglicéridos y HbA1c mostraron diferencias significativas entre las medias de los grupos AJ (Cuadro 4), destacando principalmente la apreciada entre los grupos CTRL y RD ($p < 0.001$); cabe destacar que todas las variables bioquímicas se encontraron en niveles normales en el grupo control de adultos jóvenes. Las mediciones de colesterol total entre los grupos no mostraron diferencia en el análisis general ni en la prueba post-hoc.

Cuadro 4. Valores de caracterización bioquímica subgrupos AJ

	AJ CTRL	AJ DMT2	AJ RD	P
HbA1c	5.58 ± 0.62	8.15 ± 1.81	8.4 ± 2.74	< 0.001 ^a
Glucosa	85.8 ± 6.91	170.9 ± 84.64	185.72 ± 88.9	< 0.001 ^a
Colesterol Total	173.5 ± 34.73	194 ± 78.95	198 ± 63.28	0.084
Triglicéridos	98 ± 48.14	182.01 ± 66.06	187 ± 77.76	< 0.001 ^a

AJ CTRL, Adulto joven control; AJ DMT2, Adulto joven Diabetes mellitus tipo 2; AJ RD, Adulto joven retinopatía diabética; HbA1c, Hemoglobina glicada; ^a: diferencia significativa entre los grupos CTRL y RD (< 0.001). Valores representados como media ± desviación estándar.

Los niveles de los parámetros bioquímicos para los subgrupos AM (Cuadro 5) presentaron diferencias significativas entre todas las variables a excepción de las concentraciones de colesterol total ($p = 0.051$). Las pruebas post-hoc demostraron diferencias

significativas de dichas variables entre los subgrupos AM CTRL y AM RD ($p < 0.001$). Los valores se comportaron entre los niveles normales en el subgrupo control para todos los parámetros, resaltando el caso de los niveles de TAG que se encontraron en niveles considerados saludables en los 3 subgrupos AM (< 150 mg/dL).

Cuadro 5. Valores de caracterización bioquímica subgrupos AM

	AM CTRL	AM DMT2	AM RD	<i>P</i>
HbA1c	5.4 ± 0.55	6.9 ± 1.31	7.2 ± 1.82	< 0.001^a
Glucosa	86. ± 9.74	115 ± 72.25	146 ± 54.5	< 0.001^a
Colesterol Total	191.32 ± 43.89	169.5 ± 61.06	206.99 ± 55.3	0.051
Triglicéridos	116.89 ± 50.18	136.5 ± 65.93	147.5 ± 124.4	< 0.001^a

AM CTRL, Adulto mayor control; AM DMT2, Adulto mayor Diabetes mellitus tipo 2; AM RD, Adulto mayor retinopatía diabética; HbA1c, Hemoglobina glicada; ^a: diferencia significativa entre los grupos CTRL y RD (< 0.001). Valores representados como media ± desviación estándar.

8.4. Determinación de frecuencias genotípicas del gen AGER en los grupos de estudio

Para la realización de los análisis de los 3 polimorfismos del gen AGER se procedió a dividir los sujetos de estudio en 2 grupos en función de la variable de respuesta central para este trabajo: Individuos sin diagnóstico de RD e individuos con diagnóstico de RD, y estos se nombraron como “No RD” y “RD”, respectivamente.

9.4.1 Distribución alélica y genotípica de polimorfismos del gen AGER

Las distribuciones alélicas de rs1800624 reportaron una marcada abundancia del alelo más frecuente reportado para población de Latinoamérica, el cual es A, por adenina. El alelo menos frecuente fue su variante polimórfica T, por timina. En el análisis general, que consideró a los 2 subgrupos como uno solo, la población de estudio se comportó en equilibrio de Hardy-Weinberg (HWE, Hardy-Weinberg equilibrium, por sus siglas en inglés) con un p valor de **0.19**. El conteo y distribución de sus alelos puede observarse a detalle en el Cuadro 6. En los análisis por subgrupo, las proporciones de distribución alélica se comportaron de forma similar tanto en No RD como en RD, con una proporción de A del 0.66 y de 0.65, respectivamente.

Las distribuciones genotípicas de rs1800624 mostraron una mayor abundancia del genotipo polimórfico (A/T) con respecto al genotipo ancestral (A/A), obteniendo proporciones de 0.49 y 0.41, respectivamente, en el análisis general sin distinción entre subgrupos. El subgrupo No RD presentó una proporción de 0.4 para A/A, 0.53 para A/T y 0.07 para el homocigoto mutado T/T, mientras que el subgrupo RD presentó proporciones similares de los genotipos A/A y A/T (0.44 y 0.41, respectivamente) pero ligeramente más abundantes del homocigoto mutado T/T (0.14) en comparación al subgrupo No RD. Los conteos y proporciones mencionadas anteriormente pueden apreciarse en el Cuadro 6.

Cuadro 6. Distribución alélica y genotípica de rs1800624 en los subgrupos No RD y RD.

rs1800624							
		Total (n=232)		No RD		RD	
		Conteo	Proporción	Conteo	Proporción	Conteo	Proporción
Alelos	A	307	0.66	226	0.66	82	0.65
	T	157	0.34	114	0.44	44	0.35
Genotipos	A/A	96	0.41	68	0.4	28	0.44
	A/T	115	0.49	89	0.52	26	0.41
	T/T	21	0.09	12	0.07	9	0.14
pHWE		0.19		0.055		0.6	

Valores estadísticamente significativos de p son mostrados en letras negritas. pHWE, p valor del equilibrio de Hardy-Weinberg calculado mediante prueba de chi cuadrada.

Las distribuciones alélicas del rs1800625 mostraron mayor frecuencia del alelo reportado como abundante en población de Latinoamérica, el cual es T. El alelo menos frecuente en dicha población fue su variante polimórfica C, por guanina. En el análisis general, la población de estudio se comportó en equilibrio de HW con un p valor de **0.11**. El conteo y distribución de sus alelos puede observarse a detalle en el Cuadro 7. En los análisis por subgrupo, las proporciones de distribución alélica mostraron un leve incremento del alelo mutado C en el subgrupo RD en comparación al subgrupo No RD, con una proporción del 0.39 y de 0.24, respectivamente.

Las distribuciones genotípicas de rs1800625 mostraron una mayor abundancia del genotipo ancestral (T/T) con respecto al genotipo polimórfico (T/C), obteniendo proporciones de 0.54 y 0.35, respectivamente, en el análisis general sin distinción entre subgrupos. En los análisis por subgrupo, el subgrupo No RD presentó una elevada proporción del genotipo ancestral con 0.61 para T/T, 0.31 para el genotipo mutado T/C y 0.08 para el homocigoto mutado C/C, mientras que el subgrupo RD presentó proporciones notablemente más abundantes los genotipos mutados T/C y C/C (0.52 y 0.13, respectivamente) en comparación al subgrupo No RD. Los conteos y proporciones mencionadas anteriormente pueden apreciarse en el Cuadro 7.

Cuadro 7. Distribución alélica y genotípica de rs1800625 en los subgrupos No RD y RD.

		rs1800625					
		Total (n=230)		No RD		RD	
		Conteo	Proporción	Conteo	Proporción	Conteo	Proporción
Alelos	T	334	0.72	260	0.76	77	0.61
	C	126	0.28	80	0.24	49	0.39
Genotipos	T/T	126	0.54	104	0.62	22	0.35
	T/C	82	0.35	49	0.30	33	0.52
	C/C	22	0.09	14	0.08	8	0.13
pHWE		0.11		0.017		0.58	

Valores estadísticamente significativos de p son mostrados en letras negritas. pHWE, p valor del equilibrio de Hardy-Weinberg calculado mediante prueba de chi cuadrado.

Las distribuciones alélicas de rs2070600 mostraron una evidente mayor frecuencia del alelo reportado como abundante en población de Latinoamérica, el cual es C, por citosina. El alelo menos frecuente en dicha población fue su variante polimórfica T. En el análisis general, la población de estudio se comportó discordante al equilibrio de HW con un p valor de **0.016**. El conteo y distribución de sus alelos puede observarse a detalle en el Cuadro 8. En los análisis por subgrupo, las proporciones de distribución alélica mostraron comportamientos semejantes tanto en No RD como en RD, con una distribución del alelo ancestral C de 0.94 y 0.98, respectivamente.

Las distribuciones genotípicas de rs2070600 mostraron una contundente abundancia del genotipo ancestral (C/C) con respecto al genotipo polimórfico (C/T) y el homocigoto mutado (T/T), obteniendo proporciones de 0.91, 0.08 Y 0.01, respectivamente, en el análisis general sin distinción entre subgrupos. En los análisis por subgrupo, el subgrupo No RD presentó una proporción altamente similar del genotipo ancestral C/C con 0.94, en comparación al subgrupo RD, el cual presentó una proporción de este de 0.98. De forma consecuente, los genotipos mutados C/T y T/T mostraron proporciones similares entre ambos subgrupos. Los conteos y proporciones mencionadas anteriormente pueden apreciarse en el Cuadro 8.

Cuadro 8. Distribución alélica y genotípica de rs2070600 en los subgrupos No RD y RD.

rs2070600							
		Total (n=232)		No RD		RD	
		Conteo	Proporción	Conteo	Proporción	Conteo	Proporción
Alelos	C	442	0.95	319	0.94	123	0.98
	T	24	0.05	21	0.06	3	0.02
Genotipos	C/C	211	0.90	151	0.89	60	0.95
	C/T	18	0.07	15	0.08	3	0.05
	T/T	3	0.01	3	0.02	0	0
pHWE		0.016		0.017		1	

Valores estadísticamente significativos de p son mostrados en letras negritas. pHWE, p valor del equilibrio de Hardy-Weinberg calculado mediante prueba de chi cuadrado.

9.4.2 Análisis de asociación de los polimorfismos de AGER con RD

Con el objetivo de evaluar los niveles de asociación de los polimorfismos rs1800624, rs1800625 y rs2070600 con la presencia de RD se realizaron análisis de odds ratio (OR) con intervalos de confianza (IC) para medir los comportamientos de las probabilidades de ocurrencia de RD en los sujetos de estudio. Se generaron 4 modelos de herencia para cada polimorfismo del gen AGER, siendo estos herencia codominante o aditiva, herencia recesiva, herencia dominante, y herencia sobre dominante.

Los modelos de herencia para rs1800624 no mostraron valores significativos en los análisis de asociación con la presencia de RD. Los modelos codominante y recesivo obtuvieron valores de OR que indicaron una posible asociación con RD, sin embargo, no manifestaron diferencia estadísticamente significativa (Cuadro 9).

Los modelos de herencia para rs1800625 mostraron asociación estadísticamente significativa con la presencia de RD, particularmente, los modelos codominante, dominante y sobre dominante ($p = 0.00091$, $p = 0.00019$ y $p = 0.00131$, respectivamente). El modelo de herencia dominante mostró una asociación más sólida con un OR de 3.08 (1.68-5.63) y un criterio de información de Akaike (AIC) de 260.2 en comparación a los modelos codominante (OR = 3.18 (1.68-6.02) para T/C y 2.70 (1.01-7.22) para C/C, AIC = 262.1) y sobre dominante (OR = 2.65 (1.46-4.81) y AIC = 263.8) (Cuadro 10).

Ninguno de los modelos de herencia para rs2070600 mostraron valores significativos en los análisis de asociación con la presencia de RD (Cuadro 11).

Cuadro 9. Modelos de herencia para análisis de asociación de genotipos de rs1800624 con RD.

Modelo	Genotipo	No RD n (%)	RD n (%)	OR (95% IC)	p	AIC
Codominante	A/A	68 (40.2)	28 (44.4)	1.00	0.1474	273.5
	A/T	89 (52.7)	26 (41.3)	0.71 (0.38-1.32)		
	T/T	12 (7.1)	9 (14.3)	1.82 (0.69-4.80)		
Dominante	A/A	68 (40.2)	28 (44.4)	1.00	0.5635	275.0
	A/T-T/T	101 (59.8)	35 (55.6)	0.84 (0.47-1.51)		
Recesivo	A/A-A/T	157 (92.9)	54 (85.7)	1.00	0.1035	272.7
	T/T	12 (7.1)	9 (14.3)	2.18 (0.87-5.46)		
Sobre dominante	A/A-T/T	80 (47.3)	37 (58.7)	1.00	0.1219	273.0
	A/T	89 (52.7)	26 (41.3)	0.63 (0.35-1.13)		

No RD, subgrupo no retinopatía diabética; RD, subgrupo retinopatía diabética; OR, odds ratio; IC, intervalo de confianza; AIC, criterio de información de Akaike.

Cuadro 10. Modelos de herencia para análisis de asociación de genotipos de rs1800625 con RD.

Modelo	Genotipo	No RD n (%)	RD n (%)	OR (95% IC)	p	AIC
Codominante	T/T	104 (62.3)	22 (34.9)	1.00	0.00091	262.1
	T/C	49 (29.3)	33 (52.4)	3.18 (1.68-6.02)		
	C/C	14 (8.4)	8 (12.7)	2.70 (1.01-7.22)		
Dominante	T/T	104 (62.3)	22 (34.9)	1.00	0.00019	260.2
	T/C-C/C	63 (37.7)	41 (65.1)	3.08 (1.68-5.63)		
Recesivo	T/T-T/C	153 (91.6)	55 (87.3)	1.00	0.33351	273.1
	C/C	14 (8.4)	8 (12.7)	1.59 (0.63-4.00)		
Sobre dominante	T/C-C/C	118 (70.7)	30 (47.6)	1.00	0.00131	263.8
	T/C	49 (29.3)	33 (52.4)	2.65 (1.46-4.81)		

No RD, subgrupo no retinopatía diabética; RD, subgrupo retinopatía diabética; OR, odds ratio; IC, intervalo de confianza; AIC, criterio de información de Akaike.

Cuadro 11. Modelos de herencia para análisis de asociación de genotipos de rs2070600 con RD.

Modelo	Genotipo	No RD n (%)	RD n (%)	OR (95% IC)	p valor	AIC
Codominante	C/C	151 (89.3)	60 (95.2)	1.00	0.4563	274.2
	C/T	15 (8.9)	3 (4.8)	0.50 (0.14-1.80)		
	T/T	3 (1.8)	0	0.00		
Dominante	C/C	151 (89.3)	60 (95.2)	1.00	0.1402	273.2
	C/T-T/T	18 (10.7)	3 (4.8)	0.42 (0.12-1.48)		
Recesivo	C/C-C/T	166 (98.2)	63 (100)	1.00	0.5647	273.4
	T/T	3 (1.8)	0	0.00		
Sobre dominante	C/C-T/T	154 (91.1)	60 (95.2)	1.00	0.4563	274.2
	C/T	15 (8.9)	3 (4.8)	0.51 (0.14-1.84)		

No RD, subgrupo no retinopatía diabética; RD, subgrupo retinopatía diabética; OR, odds ratio; IC, intervalo de confianza; AIC, criterio de información de Akaike.

8.5. Cuantificación de AGEs y sRAGE en los grupos de estudio

Para determinar las concentraciones de AGEs y sRAGE circulantes en los distintos subgrupos (CTRL, DMT2 y RD, con sus respectivas divisiones AJ y AM) se procedió a su cuantificación por medio de análisis de fluorescencia y la técnica ELISA, respectivamente. Este análisis diferenció los grupos de estudio según lo planteado en la metodología con el propósito de evitar sesgos al comparar mediciones de moléculas séricas entre individuos cuyo promedio de edad se diferenciase en exceso. En la Figura 12A se aprecia el análisis de los niveles séricos de AGEs entre los subgrupos AJ, el cual fue significativamente mayor en el subgrupo DMT2 ($p < 0.001$) con respecto al subgrupo CTRL (257.89 ± 112.44 vs 144.68 ± 55.02 UAF/ μ g/mL, respectivamente), así como en comparación contra el grupo RD (257.89 ± 112.44 vs 159.17 ± 85.08 UAF/ μ g/mL). En la Figura 12B, el análisis de los niveles séricos del receptor sRAGE no mostró diferencias significativas en las comparaciones entre ninguno de los subgrupos ($F = 0.504$, $p = 0.605$).

Por otra parte, la cuantificación de AGEs fluorescentes en los subgrupos AM se muestra en la Figura 13A, donde se aprecia que los niveles séricos de AGEs fueron significativamente menores en el subgrupo RD ($p = 0.008$) en comparación con los controles (174.62 ± 73.34 vs 217.71 ± 89.14 UAF/ μ g/mL, respectivamente); comportándose esta diferencia significativa de forma similar entre el subgrupo RD ($p < 0.001$) en comparación con el subgrupo DMT2 (174.62 ± 73.34 vs 251.18 ± 117.38 UAF/ μ g/mL) siendo este último el subgrupo que presentó los niveles más elevados de AGEs fluorescentes en el análisis. En la Figura 13B, se observó una diferencia significativa de los niveles de sRAGE entre los subgrupos AM ($p < 0.001$), donde se observaron niveles considerablemente menores del receptor en el subgrupo RD ($p < 0.001$) con respecto a los subgrupos CTRL (1844.39 ± 1294.28 vs 3385.01 ± 1527.19 pg/mL) y DMT2 (1844.39 ± 1294.28 vs 2539.55 ± 1327.94 pg/mL).

Estos resultados indican que los niveles circulantes de AGEs de tipo fluorescente se encuentran en mayores concentraciones en aquellos subgrupos que, o no llevan un control glucémico, o no llevan un control terapéutico tan estricto de la glucosa. Además, se pudo apreciar que los niveles circulantes de sRAGE se encontraron significativamente reducidos en la comparación más empatada entre subgrupos, la cual fue entre los subgrupos AM (teniendo en cuenta que la comparación de subgrupos AJ se encontraba dispar en el muestreo de individuos retinópatas obtenidos para el estudio, siendo estos la mitad de los obtenidos para los subgrupos CTRL y DMT2). El hecho de ser capaces de apreciar esta reducción significativa de los niveles de sRAGE en el subgrupo más comórbido podría corroborar el papel protector de este receptor soluble en aquellos individuos que no sufren de diabetes mellitus tipo 2 ni de ninguna de sus complicaciones asociadas.

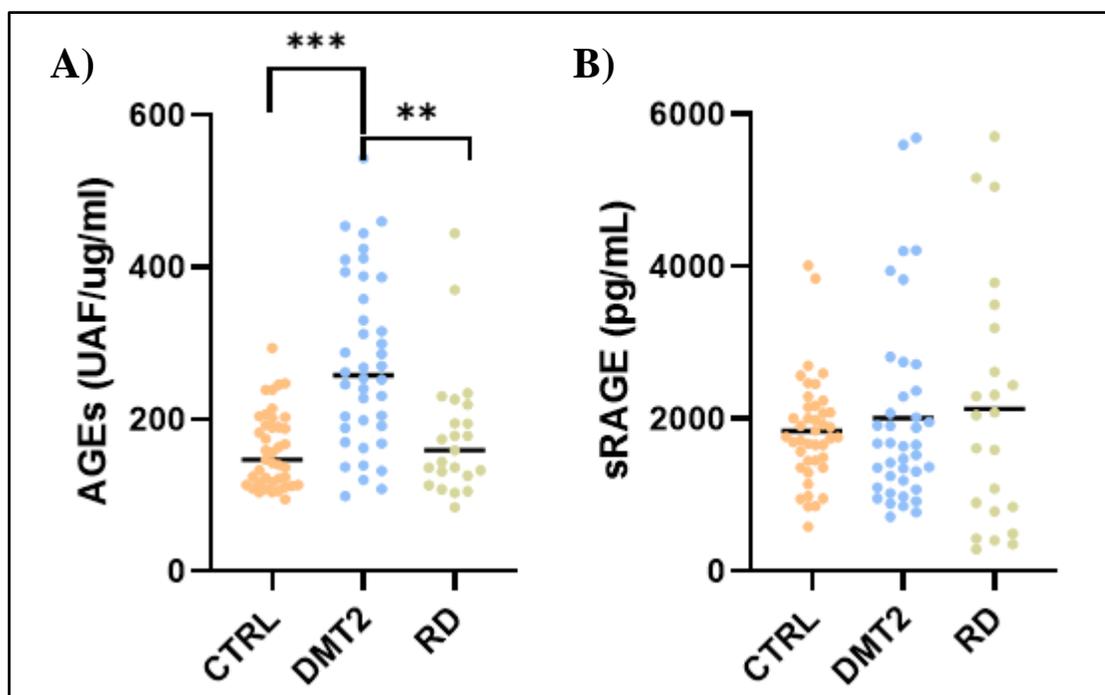


Figura 12. Análisis de concentraciones de los niveles de AGEs fluorescentes y sRAGE entre los subgrupos AJ.

AGEs, productos finales de glicación avanzada; sRAGE, receptor soluble de los productos finales de glicación avanzada; UAF, unidades arbitrarias de fluorescencia; CTRL, subgrupo control; DMT2, subgrupo diabetes mellitus tipo 2; RD, subgrupo retinopatía diabética. **A)** Niveles de AGEs fluorescentes en subgrupos AJ. **B)** Niveles de sRAGE en subgrupos AJ. Las diferencias estadísticas se probaron mediante H de Kruskal-Wallis para los AGEs y ANOVA de un factor para el sRAGE. Diferencia significativa ** ($p=0.001$), *** ($p<0.001$).

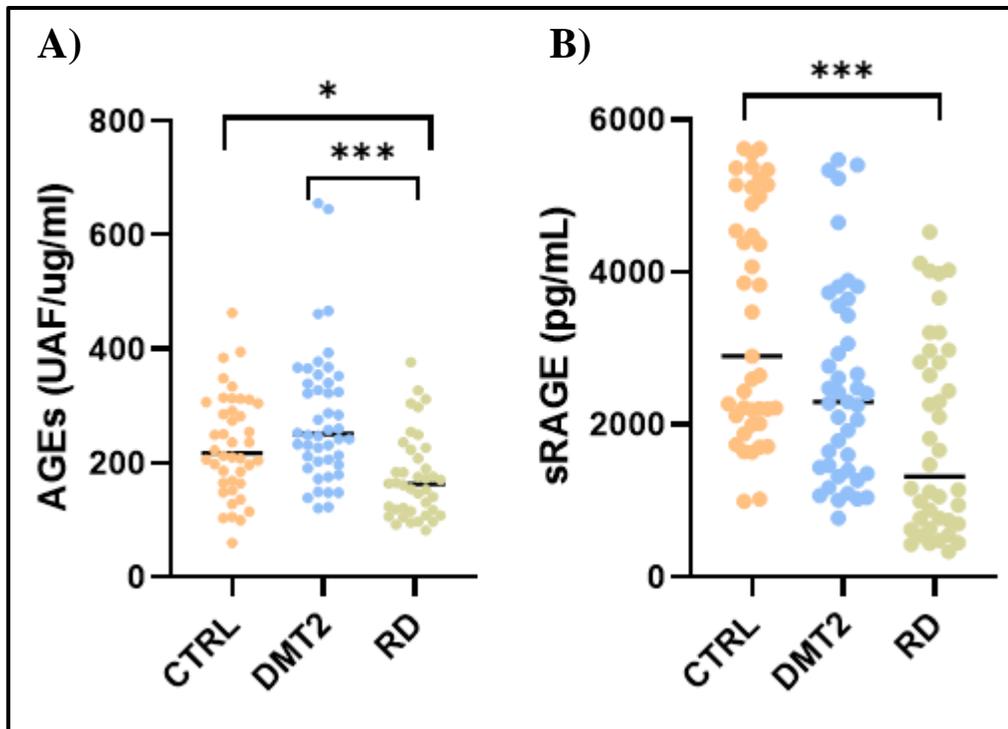


Figura 13. Análisis de concentraciones de los niveles de AGEs fluorescentes y sRAGE entre los subgrupos AM.

AGEs, productos finales de glicación avanzada; sRAGE, receptor soluble de los productos finales de glicación avanzada; UAF, unidades arbitrarias de fluorescencia; CTRL, subgrupo control; DMT2, subgrupo diabetes mellitus tipo 2; RD, subgrupo retinopatía diabética. **A)** Niveles de AGEs fluorescentes en subgrupos AJ. **B)** Niveles de sRAGE en subgrupos AJ. Las diferencias estadísticas se probaron mediante H de Kruskal-Wallis para los AGEs y ANOVA de un factor para el sRAGE. Diferencia significativa * ($p < 0.05$), *** ($p < 0.001$).

8.6. Análisis de correlación

Posterior a los análisis correspondientes para las moléculas de AGEs fluorescentes y el receptor soluble sRAGE en los que se evaluó sus diferentes comportamientos entre los subgrupos AJ y AM, se realizaron distintas correlaciones entre dichas moléculas con las variables antropométricas y bioquímicas con la finalidad de vislumbrar asociaciones con potencial repercusión en el papel funcional que estas ejercen en los grupos de estudio.

El análisis de correlación no mostró asociaciones entre los niveles circulantes de AGEs fluorescentes y las variables antropométricas y bioquímicas en los subgrupos AJ (Cuadro 6). Sin embargo, en los análisis de los subgrupos de adulto mayor, se observó una asociación negativa de los AGEs con los niveles de sRAGE ($r = -0.568$, $p < 0.001$) en el subgrupo de AM CTRL; además, en el mismo subgrupo se observaron correlaciones de los niveles de AGEs con variables que están involucradas en el metabolismo de los lípidos como el colesterol total ($r = 0.494$, $p < 0.001$) y los niveles de triglicéridos ($r = 0.542$, $p < 0.001$) (Cuadro 7). En el subgrupo de AM DMT2 se observó una leve correlación de los niveles de AGEs con los valores de ICC ($r = 0.358$, $p = 0.02$) (Cuadro 7).

Los análisis de correlación de los niveles de sRAGE mostraron únicamente 2 asociaciones en los subgrupos AJ; la primera de ellas en el subgrupo AJ CTRL en el cual se observó una asociación negativa con la edad de los individuos ($r = -0.361$, $p = 0.01$), y la siguiente se apreció en el subgrupo AJ DMT2 en donde se observó una correlación considerable de los niveles de sRAGE con las mediciones de glucosa ($r = 0.425$, $p = 0.006$) (Cuadro 8). Por otra parte, sRAGE se correlacionó de forma negativa en el subgrupo AM CTRL con variables involucradas en el metabolismo de los carbohidratos como glucosa ($r = -0.357$, $p = 0.028$) y HbA1c ($r = -0.441$, $p = 0.006$); adicionalmente y de forma similar, se observó una asociación negativa de los niveles de HbA1c ($r = -0.308$, $p = 0.05$) en el subgrupo de AM DMT2 (Cuadro 9).

Cuadro 12. Análisis de correlación entre los niveles circulantes de AGEs fluorescentes y las variables antropométricas y bioquímicas de los subgrupos AJ.

AGEs			
Grupo de estudio / Variable	AJ CTRL (p)	AJ DMT2 (p)	AJ RD (p)
sRAGE (pg/mL)	0.183 (0.24)	-0.284 (0.075)	0.28 (0.19)
Edad (Años)	0.199 (0.2)	0.119 (0.46)	0.196 (0.37)
Datos antropométricos			
IMC (kg/m²)	-0.005 (0.97)	-0.074 (0.65)	-0.042 (0.84)
Perímetro de cintura (cm)	-0.056 (0.72)	-0.125 (0.46)	-0.098 (0.66)
ICC	0.022 (0.89)	-0.191 (0.25)	-0.024 (0.91)
Grasa corporal (%)	-0.037 (0.81)	-0.019 (0.9)	0.099 (0.65)
Datos bioquímicos (mg/dL)			
Glucosa	-0.001 (0.99)	-0.295 (0.06)	0.093 (0.68)
Colesterol total	0.114 (0.47)	0.057 (0.72)	0.012 (0.95)
Triglicéridos	-0.064 (0.68)	-0.174 (0.28)	0.049 (0.83)
HbA1c (%)	0.164 (0.29)	-0.133 (0.41)	0.11 (0.63)

AGEs, productos finales de glicación avanzada; sRAGE, receptor soluble de productos finales de glicación avanzada; AJ CTRL, Adulto joven control; AJ DMT2, Adulto joven diabético; AJ RD, Adulto joven retinopatía diabética; IMC, índice de masa corporal; ICC, índice de cintura cadera; HbA1c, hemoglobina glicosilada. Datos analizados mediante coeficiente de correlación de Spearman.

Cuadro 13. Análisis de correlación entre los niveles circulantes de AGEs fluorescentes y las variables antropométricas y bioquímicas de los subgrupos AM.

AGEs			
Grupo de estudio / Variable	AM CTRL (p)	AM DMT2 (p)	AM RD (p)
sRAGE (pg/mL)	-0.568 (<0.001)	-0.223 (0.15)	0.038 (0.84)
Edad (Años)	0.005 (0.97)	0.220 (0.16)	-0.119 (0.53)
Datos antropométricos			
IMC (kg/m ²)	0.017 (0.91)	-0.169 (0.28)	0.020 (0.91)
Perímetro de cintura (cm)	-0.034 (0.83)	0.121 (0.44)	0.101 (0.60)
ICC	-0.311 (0.054)	0.358 (0.02)	0.037 (0.84)
Grasa corporal (%)	0.123 (0.45)	-0.252 (0.108)	-0.318 (0.09)
Datos bioquímicos (mg/dL)			
Glucosa	0.284 (0.068)	0.233 (0.108)	-0.093 (0.63)
Colesterol total	0.494 (0.001)	-0.001 (0.99)	-0.193 (0.31)
Triglicéridos	0.542 (<0.001)	-0.051 (0.74)	0.093 (0.63)
HbA1c (%)	0.237 (0.23)	0.165 (0.29)	-0.033 (0.86)

AGEs, productos finales de glicación avanzada; sRAGE, receptor soluble de productos finales de glicación avanzada; AM CTRL, Adulto mayor control; AM DMT2, Adulto mayor diabético; AM RD, Adulto mayor retinopatía diabética; IMC, índice de masa corporal; ICC, índice de cintura cadera; HbA1c, hemoglobina glicosilada. Datos analizados mediante coeficiente de correlación de Spearman.

Cuadro 14. Análisis de correlación entre los niveles circulantes de sRAGE y las variables antropométricas y bioquímicas de los subgrupos AJ.

sRAGE			
Grupo de estudio / Variable	AJ CTRL (p)	AJ DMT2 (p)	AJ RD (p)
Edad (Años)	-0.361 (0.01)	0.054 (0.74)	0.057 (0.76)
Datos antropométricos			
IMC (kg/m²)	-0.099 (0.53)	0.23 (0.88)	-0.228 (0.29)
Perímetro de cintura (cm)	0.003 (0.72)	0.225 (0.18)	-0.062 (0.78)
ICC	0.032 (0.84)	0.304 (0.06)	-0.148 (0.51)
Grasa corporal (%)	-0.095 (0.71)	-0.188 (0.24)	-0.315 (0.14)
Datos bioquímicos (mg/dL)			
Glucosa	0.058 (0.71)	0.425 (0.006)	-0.104 (0.64)
Colesterol total	-0.171 (0.27)	-0.177 (0.27)	-0.388 (0.074)
Triglicéridos	-0.236 (0.13)	0.082 (0.61)	0.011 (0.96)
HbA1c (%)	0.17 (0.28)	0.268 (0.095)	0.127 (0.58)

sRAGE, receptor soluble de productos finales de glicación avanzada; AJ CTRL, Adulto joven control; AJ DMT2, Adulto joven diabético; AJ RD, Adulto joven retinopatía diabética; IMC, índice de masa corporal; ICC, índice de cintura cadera; HbA1c, hemoglobina glicosilada. Datos analizados mediante coeficiente de correlación de Spearman.

Cuadro 15. Análisis de correlación entre los niveles circulantes de sRAGE y las variables antropométricas y bioquímicas de los subgrupos AM.

sRAGE			
Grupo de estudio / Variable	AM CTRL (p)	AM DMT2 (p)	AM RD (p)
Edad (Años)	-0.072 (0.66)	0.079 (0.63)	0.349 (0.06)
Datos antropométricos			
IMC (kg/m²)	-0.11 (0.48)	-0.253 (0.12)	-0.043 (0.82)
Perímetro de cintura (cm)	-0.204 (0.22)	-0.173 (0.29)	-0.212 (0.26)
ICC	0.54 (0.74)	-0.041 (0.80)	-0.248 (0.19)
Grasa corporal (%)	0.45 (0.79)	-0.160 (0.33)	0.211 (0.27)
Datos bioquímicos (mg/dL)			
Glucosa	-0.357 (0.028)	0.074 (0.65)	-0.188 (0.33)
Colesterol total	-0.17 (0.30)	0.106 (0.52)	-0.154 (0.42)
Triglicéridos	-0.097 (0.56)	-0.289 (0.074)	-0.156 (0.42)
HbA1c (%)	-0.441 (0.006)	-0.308 (0.05)	-0.232 (0.22)

sRAGE, receptor soluble de productos finales de glicación avanzada; AM CTRL, Adulto mayor control; AM DMT2, Adulto mayor diabético; AM RD, Adulto mayor retinopatía diabética; IMC, índice de masa corporal; ICC, índice de cintura cadera; HbA1c, hemoglobina glicosilada. Datos analizados mediante coeficiente de correlación de Spearman.

8.7. Análisis de regresión logística múltiple

Con el propósito de analizar el potencial predictor de las variables de estudio con la presencia de RD se procedió a generar modelos de regresión logística múltiple. El planteamiento de los modelos obedeció una metodología idéntica al análisis de polimorfismos, es decir, se generaron modelos que consideraran la población de estudio sin distinción entre subgrupos. Esto con el propósito de obtener modelos más significantes al analizar grupos más nutridos en conteo de individuos.

Todos los modelos que se corrieron consideraron como principal regresor al único polimorfismo que manifestó significancia y capacidad predictiva con la presencia de RD, tratándose del rs1800625 en un modelo de herencia dominante. Distintos modelos se corrieron con la intención de obtener aquel que mostrase el mejor comportamiento de predicción, tomando en cuenta parámetros como OR, IC, p valor y AIC.

De forma inicial se ejecutaron modelos que incluyesen todas las variables antropométricas y bioquímicas analizadas en nuestro estudio, y estas fueron descartándose de forma alternativa en función de obtener un mejor modelo de regresión para predecir presencia de RD en nuestra población de estudio. Finalmente se generó un modelo que incluyó como variable predictora principal al rs1800625 en modelo de herencia dominante, además de variables antropométricas como sexo, edad, IMC y perímetro de cintura, así como variables bioquímicas como glucosa, HbA1c, TAG, AGEs y sRAGE. Este modelo ajustado reportó un valor de intercepto de OR= 1.46e-05 y obtuvo valores de OR estadísticamente significativos en las variables edad, perímetro de cintura, HbA1c, TAG, AGEs y sRAGE. El modelo y sus valores de OR e IC pueden observarse a detalle en el cuadro 16.

Cuadro 16. Modelo de regresión logística múltiple.

Regresión logística múltiple para retinopatía diabética			
Variable	OR (IC)	<i>p</i>	AIC
Intercepto	1.46e-05 (3.62e-08 -0.0024)	<0.0001	146.52
rs1800625 MD A/G	3.598 (1.4355 - 9.6032)	0.007751	
Sexo (Masculino)	0.482 (0.1483 – 1.5253)	0.216276	
Edad	1.098 (1.0469 – 1.1610)	0.000333	
IMC	0.794 (0.6503 – 0.9571)	0.019239	
Perímetro de cintura	1.12 (1.0399 – 1.2164)	0.004045	
Glucosa	1.00 (0.9922 – 1.0080)	0.867012	
HbA1c	1.41 (1.0084 – 2.0345)	0.049829	
TAG	1.07 (1.0008 – 1.0145)	0.037800	
AGEs	0.98 (0.9786 – 0.9910)	<0.0001	
sRAGE	0.99 (0.9924 -0.9999)	0.046115	

OR, *odds ratio*; IC, intervalo de confianza; AIC, criterio de Akaike; MD, modelo dominante; IMC, índice de masa corporal; HbA1c, hemoglobina glucosilada; TAG, triglicéridos; AGEs, productos finales de glicación avanzada; sRAGE, receptor soluble de los productos finales de glicación avanzada. Los valores significativos se muestran en negritas.

IX. DISCUSIÓN

Se han realizado múltiples estudios con el propósito de vislumbrar la asociación de diversas variables, tanto antropométricas como bioquímicas, con el desarrollo o incidencia de retinopatía diabética en distintas poblaciones, limitándose la mayoría a poblaciones de origen asiático o de medio oriente. Este estudio, además del abordaje de variables antropométricas y bioquímicas mencionado anteriormente, explora la potencial asociación de las frecuencias genotípicas de 3 polimorfismos del gen AGER, así como su repercusión en los niveles circulantes de AGEs y sRAGE, específicamente en individuos nacidos en México (particularmente en su región noroeste) y gestionando su abordaje según el grupo etario al que pertenecen con el fin de reducir sesgos asociados con la edad.

Dentro de las principales variables antropométricas asociadas al riesgo de desarrollar complicaciones metabólicas está el sobrepeso y la obesidad, pues está altamente reportado que los índices de masa corporal elevados, así como longitudes más extensas de perímetro de cintura y altos niveles de grasa corporal influyen de manera significativa en la aparición de complicaciones tanto cardiovasculares como de la microvasculatura de los afectados, factores que se ven exacerbados en el contexto de diabetes mellitus tipo 2 en donde el sobrepeso y la propia obesidad son condicionantes para su desarrollo (94, 95). Directamente por lo anterior, es completamente esperable que se aprecien diferencias entre las mediciones de variables antropométricas asociadas al sobrepeso y obesidad entre los grupos de estudio de este proyecto, observándose congruentemente niveles significativamente mayores de IMC, perímetro de cintura e ICC en los subgrupos de RD, tanto en subgrupos AJ como AM. Y estos datos se comportan de forma coincidente con estudios realizados en diferentes regiones (desde etnias caucásicas hasta asiáticas) donde se exploró dicho abordaje de variables en poblaciones con y

sin retinopatía diabética en conjunto con DMT2. Buraczynska y colaboradores en 2021 publicaron un estudio en población caucásica originaria de Polonia en el que buscaron asociar la presencia de un polimorfismo del gen de la arginasa con el aumento de la susceptibilidad a desarrollar retinopatía diabética en el contexto de DMT2; los resultados descriptivos de los grupos que analizaron, los cuales involucraban tanto adultos jóvenes como mayores, arrojaron que el IMC estaba considerablemente más elevado en aquellos sujetos que padecían retinopatía diabética en comparación con su población de controles (30.6 ± 8.3 vs 27.1 ± 4.2 , respectivamente) (96). Kaur y Vanita en el 2017 realizaron un estudio en población de origen indio donde buscaron la potencial asociación un polimorfismo del gen del receptor gamma activado por proliferador de peroxisoma (PPAR γ) con el desarrollo de retinopatía diabética, en el cual apreciaron en sus estadísticos descriptivos que el IMC se encontraba ligera pero significativamente más elevado en pacientes con RD en comparación con individuos que padecían DMT2 (97). Por otra parte, un estudio realizado en China por Zhu Li y colaboradores en el 2015 exploró la asociación de un polimorfismo del gen de la proteína intestinal ligadora de ácidos grasos 2 (FABP2) con la retinopatía diabética en población de dicho país, obteniendo resultados concordantes con los obtenidos en nuestro estudio, en donde el grupo sin RD presentó niveles significativamente mayores de IMC en comparación contra aquellos que no la presentaban (27.1 ± 3.3 vs 26.4 ± 3.5 , respectivamente), particularmente en adultos jóvenes (98). Por último, Setsi y colaboradores en el 2015, en un estudio que abordó la asociación de un polimorfismo del gen para el factor de necrosis tumoral (TNF) con la susceptibilidad al desarrollo de RD en población originaria de Brasil, publicaron que sus grupos de retinopatía (analizaron grupos tanto de no proliferativos como proliferativos) presentaban incrementos de IMC significativos en comparación contra sus controles analizados (33.4 ± 19 y 38.9 ± 2.16 vs 29.9 ± 9.1 , respectivamente) (99).

Es de vital importancia tener en cuenta que los individuos que padecen esta condición ocular antes de retinópatas son individuos diabéticos que, como se mencionó anteriormente, pueden deber el desarrollo de su fisiopatología a un estilo de vida compatible con niveles de sobrepeso y obesidad. La causa principal de diabetes tipo 2 promovida por sobrepeso es la resistencia a la insulina en el hígado, el tejido adiposo blanco y el músculo esquelético, además de la conocida deficiencia en la secreción insulínica por parte de las células beta-pancreáticas para contrarrestar dicha resistencia (100). El tejido adiposo es considerado una glándula de tipo endócrina pues este secreta diversas hormonas, citoquinas y moléculas que además participan en la actividad vascular. Aunado a lo anterior, participa en el balance de energía por medio de la secreción de leptina y adiponectina (100, 101). La leptina lleva el control del peso corporal mediante la regulación de la ingesta alimenticia y el gasto energético, siendo clave en la regulación de la función neuroendocrina. Además, es responsable de la vasoconstricción inducida por angiotensina II que actúa directamente en las células vasculares presentes en músculo liso (102). Por otro lado, la adiponectina es una adipocina expresada de forma casi exclusiva en el tejido adiposo y es responsable de aumentar la sensibilidad a la insulina, así como de ejecutar acciones de tipo antiinflamatorio. Está ampliamente reportado que sus niveles sanguíneos disminuyen con el incremento del IMC y se correlaciona de forma negativa con la RI. Por el contrario, la leptina está correlacionada positivamente con el grado de adiposidad y RI (102, 103). Es por el contexto anteriormente mencionado que no deberían verse como fenómenos ajenos e individuales los factores asociados al sobrepeso y a la obesidad como condicionantes del desarrollo y progresión de diabetes mellitus tipo 2 o de alguna de sus complicaciones severas asociadas, pues considerarlas en etapas iniciales es un auxiliar en la prospección de los pacientes con diabetes.

Los resultados obtenidos en nuestro estudio respecto a moléculas relacionadas con el metabolismo de los carbohidratos mostraron diferencias significativas tanto en subgrupos AJ como en subgrupos AM, encontrando incluso que los niveles de los subgrupos controles se comportaron dentro de los parámetros establecidos como normales a nivel mundial (AJ: HbA1c = 5.5 ± 0.62 , glucosa = 85.8 ± 6.9 ; AM: HbA1c = 5.4 ± 0.55 , glucosa = 86 ± 9.74) (104). Tal como se mencionó antes, los niveles de HbA1c y glucosa sérica se encontraron significativamente más elevados en los subgrupos de retinópatas en comparación con los controles y con incrementos leves en contraste con los subgrupos con diabetes más no fueron de carácter estadísticamente significativo, ambas situaciones altamente coincidentes con estudios que exploraron la diferencia de estas moléculas entre diversas poblaciones de retinópatas. Jehanzeb y colaboradores en el 2022 (un estudio mencionado con anterioridad en este trabajo) reportó en la estadística descriptiva de su población los niveles HbA1c se elevaron significativamente entre los individuos con RD que analizaron, esto en contraste con los individuos controles y principalmente en población menor a 60 años (90). De forma similar, Zhi Xiang y colaboradores en el año 2012 obtuvieron resultados concordantes con los nuestros en cuanto a diferenciación de niveles de HbA1c entre retinópatas e individuos sanos (9.0 ± 2.1 vs 5.6 ± 0.4), obteniendo además diferencias significativas de niveles más elevados de esta molécula en grupos RD contra pacientes diabéticos (105). Hussin Alimam y colaboradores publicaron en 2022 un estudio que consideró población retinópata originaria de Sudán y en el cual se analizó la diferencia de estas moléculas relacionadas al metabolismo de los carbohidratos en adultos mayores, obteniendo que aquellos individuos pertenecientes a su grupo de RD presentaron marcados incrementos tanto en niveles de HbA1c como de glucosa sérica en comparación a los niveles de sus individuos controles (9.9 ± 2.2 vs 4.8 ± 0.1 y 190.1 ± 8.0 vs 91.1 ± 1.1 , respectivamente) (106). Por último, la leve diferencia que no llega a ser

estadísticamente significativa de los niveles de HbA1c y glucosa entre grupos diabéticos y retinópatas apreciada en nuestro estudio actúa, de forma similar, como resultado coincidente con estudios realizados en población caucásica que únicamente consideraron individuos diabéticos sin incluir controles sanos en sus muestreos, como es el caso de Emin Grbic y colaboradores en el 2023 quienes publicaron un estudio que no pudo apreciar diferencias entre los niveles de glucosa de sus grupos (DMT2 vs RD) y encontrando diferencias exiguas entre los niveles de HbA1c en los análisis de su población de estudio (107).

Las mediciones de moléculas relacionadas con el metabolismo de los lípidos forman parte rutinaria de los análisis bioquímicos que se desarrollan para explorar de forma primordial a las poblaciones y los estudios de individuos retinópatas no se ven exentos de dicho abordaje bioquímico; sin embargo, estas mediciones acostumbran a pasar a términos secundarios pues se le da, naturalmente, prioritaria atención a las moléculas involucradas con los carbohidratos y su metabolismo. En los resultados obtenidos en nuestro estudio vislumbramos diferencias significativas en los niveles de TAG entre retinópatas y controles, no ocurriendo así con las mediciones de colesterol total, situación que se presentó tanto en los subgrupos AJ como AM. Estos resultados no distan de los que reportan estudios de RD realizados en individuos de diversos orígenes étnicos. Ekberg Neda y colaboradores, en Suecia, publicaron un estudio en 2019 que involucró medición de niveles de colesterol total y TAG entre individuos sin RD, con RD no proliferativa y RD proliferativa, principalmente en población de adultos jóvenes; ellos reportaron que los niveles de TAG se comportaron de forma altamente similar entre los 3 grupos, sin embargo apreciando incrementos significativos en la población del grupo de RD contra diabéticos y controles ($p < 0.001$), mientras que sus mediciones de colesterol total arrojaron nulas diferencias estadísticas entre los distintos grupos, datos que coinciden con el comportamiento de ambas moléculas que pudimos percibir en nuestros resultados (108). Por otra parte,

Kolahdouz y colaboradores en el 2015 publicaron un estudio en Irán el cual involucró 110 individuos, donde se exploraron las diferencias de los niveles de estas moléculas entre individuos diabéticos y retinópatas. Los resultados que reportaron en su estudio fue que los niveles de TAG se encontraban incrementados en individuos con RDP en comparación con diabéticos sin RD ($p= 0.017$), sin embargo, no encontrando dicha diferencia en las mediciones de colesterol total ($p= 0.621$) (109).

Los mecanismos de daño celular desencadenados por un estado de hiperglucemia crónica, y por lo tanto los de sus complicaciones derivadas como es el caso de la retinopatía diabética, se encuentran ampliamente estudiados y esclarecidos: desde la vía de los polioles, la propia formación de AGEs, así como la activación isoformas de la proteína quinasa C (110). No obstante, los mecanismos mediante los cuales se asocia a lípidos considerados como marcadores convencionales y el desarrollo o progresión de retinopatía diabética permanecen poco comprendidos. De forma directa, una de las vías que se mencionaron con anterioridad, la proteína quinasa C media interacción con marcadores lipídicos en ciertos puntos de su activación. La proteína quinasa C se trata de una familia conformada por 10 enzimas cuya isoforma nombrada como PKC-1/2 se ha reportado en asociación modesta con el desarrollo de retinopatía diabética (111). El estado de hiperglucemia desencadena un aumento en los niveles de glucosa mediante el crucial proceso de la glucólisis, el cual por sí mismo incrementa la síntesis de diacilglicerol (DAG) *de novo*, vital activador de la vía de la proteína quinasa C en condiciones fisiológicas (112). Aunado a lo anterior, la acumulación de ácidos grasos de cadena larga termina ocasionando su conversión en DAG. En este sentido, puesto que la proteína quinasa C se encuentra partícipe en múltiples procesos, su regulación positiva colabora en la fisiopatología de la retinopatía diabética en propiciar la síntesis de matriz extracelular y su modelamiento, la síntesis además de factores que inducen angiogénesis y su consecuente

disfunción endotelial en el contexto de esta condición, lo cual facilita la oclusión de capilares y la migración leucocitaria característica de procesos inflamatorios, eventos clave en la disfunción de la irrigación retiniana (113).

La publicación de estudios sobre polimorfismos del gen AGER presenta actualmente una distribución bastante moderada, acotando esta de forma mayoritaria a estudios cuya población fue de regiones de Europa oriental, medio oriente y Asia; es importante destacar la abundante heterogeneidad que presentan dichas poblaciones con las presentes en el continente americano, cuyo fondo genético es mestizo principalmente; estudios de polimorfismos del gen de este receptor en américa no son abundantes, y aquellos que tuvieron como objetivo analizar la genotipificación de poblaciones con individuos provenientes de esta región que presentan RD son, cuanto menos, escasos.

Fue Petrovic y col. en 2003 quienes reportaron por primera vez una asociación nula entre el polimorfismo rs1800624 con la RD de tipo proliferativo, esto acotado a población caucásica (89). Dicho trabajo obtuvo resultados contradictorios por Lindholm y col. al reportar en su estudio que los genotipos con el alelo A del polimorfismo en cuestión se encontraban asociado con RD en la misma población (80). En el año 2007 Ramprasad y col. llegaron a conclusiones altamente semejantes al reportar asociaciones moderadas de rs1800624 en población originaria de India (114). Lindholm en el 2008 reportaría asociaciones entre la presencia de este y otros polimorfismos relacionados como TNF con el desarrollo de complicaciones severas derivadas de diabetes mellitus (115). No obstante, JiXiong y col. reportaron nuevamente ausencia de asociación, esto en población procedente de China, concluyeron en su trabajo que rs1800624 no estaba asociado con el desarrollo de RD (116). Aunado a lo anterior, Lu W. y Feng B. en 2010 publicaron un trabajo en el que se reportaba un potencial efecto protector de este polimorfismo para el desarrollo de complicaciones de tipo microvascular (65).

Los resultados que obtuvimos en nuestro trabajo no encontraron asociación alguna del polimorfismo rs1800624 con la presencia de RD en ninguno de los distintos modelos de herencia. Además, y en contradicción con lo reportado en población originaria de China, no fue posible reportar al rs1800624 como un potencial factor protector contra el riesgo de RD con los datos obtenidos en nuestra población. Nuestros datos coinciden, sin embargo, con estudios más recientes realizados en población de Malasia y Pakistán, trabajos como el de Xiang y col. y Qayyum resultaron coincidentes con nuestros resultados al no ser capaces de reportar asociación alguna entre este polimorfismo y la RD (63, 88).

El primer estudio que reportó asociación entre el polimorfismo rs1800625 y un incremento en el riesgo de desarrollo de RD fue Hudson y col. en el 2001; esta asociación se concluyó así pues los resultados que obtuvieron sugerían que el rs1800625, al estar involucrado en la regulación génica de AGER, podría influir en la patogénesis de complicaciones vasculares asociadas a diabetes (86). En años recientes, Erna y col. reportarían que existía una asociación significativa entre este polimorfismo con la presencia de retinopatía diabética en pacientes con DMT2 en población de Indonesia (117). Aunado al trabajo anterior, en 2021 Qayyum y col. reportaron una asociación del rs1800625 con el desarrollo de RDNP de grado severo en población pakistaní (87). Los resultados reportados a nivel mundial con distintas poblaciones son coincidentes con los resultados obtenidos en nuestro estudio en donde se aprecia asociaciones significativas entre rs180025 y el incremento del riesgo para RD. Sin embargo, no existe una homogeneidad perfecta en los reportes generados alrededor del mundo acerca de la asociación de este polimorfismo con la RD; trabajos como los de Petrovic y col. y JiXiong y col. no fueron capaces de demostrar asociación en poblaciones caucásicas y chinas, respectivamente (89, 116).

Respecto a estudios genotipificación de rs2070600 no ha sido sino hasta años recientes que se le ha buscado dar asociación con RD. He Jin y col. en 2021 obtuvieron en sus resultados que los genotipos mutados de este polimorfismo se comportaron en asociación con disminución de riesgo para el desarrollo de RDP en población china, reportando OR de 0.18 para el genotipo TT y OR de 0.44 para el heterocigoto mutado CT (118). Este estudio obtuvo resultados contradictorios en el 2023 por parte de Jehanzeb y col. quienes reportaron que el rs2070600 estaba asociado con un incremento de riesgo para RD en pacientes con DMT2 en población de Pakistán (90). Nuestros resultados no fueron capaces de encontrar asociaciones semejantes a las reportadas en estos estudios, encontrando que no existía relación alguna entre el polimorfismo rs2070600 con el incremento o disminución del riesgo para desarrollar RD. Esta heterogeneidad y las contradicciones de resultados encontradas, en todos los polimorfismos estudiados, es probable que se explique debido a que las frecuencias de los SNP del gen del receptor AGER varían en función de la etnia en la que se realicen los estudios, hecho común en los análisis de polimorfismos que abordan poblaciones con acervos genéticos diferenciados.

Existe una amplia cantidad de estudios que reportan concentraciones elevadas de AGEs y sRAGE en poblaciones con RD; sin embargo, un gran cúmulo de las investigaciones presentan poca unanimidad respecto al comportamiento de las concentraciones de estas dos moléculas en la población de estudio en cuestión. Además, no existe una abundancia particular de estudios que evalúen niveles séricos del receptor soluble sRAGE en población con RD. Uno de los primeros trabajos que abordó esta temática se realizó en el año 2006, donde Fosmark y col. publicaron un estudio que buscó vislumbrar la posible asociación de la hidroimidazolona derivada de metilglioxal (MG-H1), un AGE generado mediante la glicación de metilglioxal con residuos de arginina, con la presencia de RD en pacientes con DMT2. En su estudio se reportó que los individuos que padecían RDNP y RDP presentaban niveles significativamente más

elevados de este AGE en comparación con individuos que no padecían RD ($p=0.0008$ y $p=0.002$, respectivamente) (119).

Kerkeni y col. en 2012 realizaron un estudio en Túnez el cual involucró la medición de concentraciones séricas tanto de AGEs, sRAGE como de pentosidina en población con RD. Los autores reportaron aumentos significativos de las 3 moléculas en pacientes con DMT2 en comparación con controles no diabéticos ($p < 0.1$, $p < 0.001$, $p < 0.001$, respectivamente). De igual modo, obtuvieron como resultado concentraciones significativamente incrementadas de las mismas 3 moléculas en pacientes que padecía RDP en comparación con el individuos con RDNP ($p=0.001$, $p=0.01$, $p=0.005$, respectivamente). Concluyendo de esta manera que los niveles séricos de AGEs, sRAGE y pentosidina estaban relacionados con la presencia de RD (92).

Un año más tarde, este grupo de investigadores realizó un estudio similar en el que midió de forma repetida las concentraciones de AGEs, sRAGE y pentosidina en poblaciones que presentaban complicaciones microvasculares derivadas de DMT2. El equipo de Kerkeni y col. reportó de forma redundante incrementos significativos de los niveles de estas 3 moléculas en población con RD y en población con nefropatía diabética ($p < 0.001$). Reportando además a la pentosidina como un determinante independiente con la presencia de RD ($p=0.004$) e hipertensión (0.036), concluyendo que este AGE podría ser considerado como un biomarcador para complicaciones de tipo microvascular en pacientes con DMT2 (120).

Es interesante resaltar que estos datos no son del todo coincidentes con los obtenidos en nuestro estudio pues en el particular caso de la medición de las concentraciones de AGEs nuestro trabajo reportó que los niveles de AGEs séricos se encontraban en efecto significativamente incrementados en individuos con DMT2, más no en aquellos que presentaban RD. Este comportamiento se observó de forma similar tanto en individuos AJ como AM, siendo estos últimos los que incluso presentaron niveles de AGEs significativamente inferiores en individuos

con RD en comparación con los pertenecientes a controles sanos (AM RD vs AM CTRL, $p < 0.05$). Esto pudiese explicarse mediante la consideración de 3 factores principalmente: Aumento de la expresión del receptor AGER en estadios avanzados de DMT2, presencia de AGEs fluorescentes y no fluorescentes, y excreción de AGEs en individuos sanos.

Empezando por el primer punto y como se mencionó en el marco teórico de este trabajo, la activación del receptor AGER por su ligando desencadena río abajo una serie de vías que desembocan en una retroalimentación positiva de la vía AGE-AGER, es decir, la presencia crónica de AGEs propicia la expresión del receptor AGER y sus consecuentes efectos deletéreos (51). Existe la posibilidad de que la cuantificación de los AGEs se comportase inferior en los grupos de RD pues en el contexto fisiopatológico de esa población los AGEs séricos están siendo captados con mayor facilidad por una exacerbada disponibilidad del receptor, volviendo complicado medir su presencia mediante fluorescencia en suero, pero siendo capaces de ver los efectos dañinos que la constante activación de esta vía genera en los individuos con RD.

El segundo punto que puede explicar el comportamiento de los resultados de nuestro estudio es la diversidad de estructuras químicas que poseen los AGEs y su capacidad de emitir fluorescencia, pues si bien existen AGEs de tipo fluorescente ampliamente reportados en complicaciones microvasculares (como es el caso de la pentosidina) existen otros tipos de AGEs que no es posible identificar su presencia mediante técnicas inespecíficas de fluorescencia (GOLD, MOLD y CML principalmente) (121). De modo que existe la posibilidad de que los subgrupos de RD analizados en este trabajo presenten más AGEs de los que pudimos apreciar, y esto podría deberse a que quizá abunden aquellos que no son sensibles a fluorescencia. Aunado a lo anterior, y considerando que todos los estudios que reportan mediciones séricas de AGEs utilizan como técnica la ELISA, existen algunos autores que sugieren que esta pudiese arrojar resultados inciertos, aún con la realización de repeticiones, proponiendo como método más

específico a la cromatografía líquida de alta presión con espectrometría de masas (HPLC-MS/MS, por sus siglas en inglés) (122).

Como tercer y último punto referente a las posibles razones que pudiesen estar implicadas en la naturaleza de nuestros resultados de AGEs fluorescentes tenemos al proceso de excreción de estos en individuo sanos. Los elevados niveles de AGEs en nuestro subgrupo de AM CTRL pudiesen estar relacionados con la capacidad fisiológica y saludable de excretar estos mediante la orina y las heces, posibilitando una abundancia mayor de los mismos, pero también una mayor capacidad de excretarlos. Un estudio que midió la ingesta dietética y la excreción de AGEs reportó que aproximadamente un tercio de estos se excretan por vía urinaria, cifra que en individuos diabéticos desciende hasta menos del 5% (123). Un estudio más reportó que la excreción de CML por medio de la orina es limitada y, después de exceder ese límite, a mayores sean los niveles de CML consumido menor será la proporción que se excreta por vía renal, sugiriendo una tasa de filtración renal de AGEs que ocurre de forma constante. Por otra parte, la excreción por vía fecal se reportó como proporcional a la ingesta, sin limitaciones apreciadas (124).

Estudios que tuvieron como objetivo comprobar el posible papel protector contra daño vascular de la isoforma soluble del receptor AGER (sRAGE) existen con relativa escasez. Uno de los primeros estudios que se centró en medir niveles séricos de sRAGE y CML en paciente con y sin complicaciones microvasculares fue hecho por Grossin y col. en 2008. Los investigadores reportaron niveles similares de sRAGE en controles y pacientes diabéticos sin complicaciones, sin embargo, en pacientes que presentaban complicaciones microvasculares el nivel de este receptor soluble se reportó significativamente disminuido ($p=0.028$) comparado con el grupo de DMT2. Concluyeron de ese modo que sus resultados reforzaban la hipótesis de que el sRAGE protege a los vasos sanguíneos del daño mediado por AGEs (125). Cabe

mencionar que estos resultados son altamente coincidentes con los resultados obtenidos en nuestros análisis en los subgrupos AM, donde los niveles de sRAGE se encontraron significativamente disminuidos en la población de RD ($p < 0.001$).

Xiang y col. en el 2013 midieron tanto niveles séricos de pentosidina como de sRAGE, además de glutatión peroxidasa y superóxido dismutasa en pacientes con RD. Los resultados que reportaron fue que los pacientes con RD y DMT2 manifestaron incrementos en los niveles de pentosidina y sRAGE, mientras que niveles disminuidos del otro par de moléculas, en comparación con controles sanos. La población de RDP presentó niveles más elevados de sRAGE que los individuos con RDNP (126). Estos resultados sugieren que los niveles de sRAGE incrementan con los niveles séricos de AGEs, datos similares con los resultados de nuestros análisis en población AJ pero discordantes con aquellos obtenidos en subgrupos AM.

El aumento de los niveles de sRAGE en contextos de hiperglucemia fisiológica y su disminución en individuos diabéticos con complicaciones severas asociadas debe su fundamento a la acción de una metaloproteasa conocida como ADAM10. Las llamadas ADAM son una familia de proteínas de amplia expresión y participan en procesos biológicos esenciales para la homeostasis tisular (127). ADAM10 ejerce un papel vital en la regulación de la quimiotaxis, los procesos inflamatorios y la correcta inducción apoptótica (128). Estudios han demostrado claramente su participación en la escisión del receptor AGER de la membrana celular generando su isoforma soluble sRAGE al verse estimulada por acción de la insulina en líneas celulares de macrófagos. Es así que ADAM10 es capaz de desempeñar alteraciones entre el receptor AGER y su ligando el impedir su interacción con la forma membranal y reducir su activación y consecuente vía de señalización (129).

X. CONCLUSIONES

10.1. Conclusión general

El genotipo heterocigoto mutado del polimorfismo rs1800625 muestra una asociación significativa con la presencia de RD en la población estudiada. Los polimorfismos rs1800624 y rs2070600 no mostraron asociación con la RD.

La isoforma sRAGE podría tener un efecto protector ante los efectos deletéreos de la activación de la vía AGE-AGER al actuar como competidor por el ligando del receptor membranal, asociando el aumento de los niveles de receptor soluble con una disminución del riesgo a desarrollar RD.

10.2. Conclusiones específicas

- Las proporciones de las frecuencias alélicas y genotípicas de rs1800624 se comportan de forma altamente semejante entre individuos sin RD y con RD.
- Las proporciones de las frecuencias alélicas y genotípicas de rs1070600 se comportan de forma altamente semejante entre individuos sin RD y con RD.
- Se observó un aumento significativo de los niveles de AGEs en el subgrupo DMT2 con respecto a CTRL y RD.
- Se observó una leve correlación negativa de la edad con los niveles de sRAGE en AJ.
- Se observó una correlación moderada de los niveles de glucosa con los niveles de sRAGE en individuos AM DMT2.
- Se observaron correlaciones negativas entre los niveles de glucosa y HbA1c con sRAGE en AM CTRL, leve y moderada, respectivamente.
- Se observó una asociación negativa leve de los niveles de HbA1c con sRAGE en el subgrupo AM DMT2.

- Variables antropométricas como la edad y el perímetro de cintura, así como variables bioquímicas como la HbA1c, los TAG y el sRAGE actúan como predictores moderados para incrementar el riesgo de RD en un modelo que incluya el genotipo heterocigoto mutado de rs1800625.

XI. PERSPECTIVAS DEL PROYECTO

Los resultados reportados se obtuvieron a partir de una clasificación por grupo etario para las moléculas séricas y las variables antropométricas, más no así para los análisis de polimorfismos; obtener un tamaño de muestra mayor aportaría, además de posibilitar un análisis por grupo etario también en polimorfismos, un incremento relevante en el poder estadístico de las pruebas que realizamos. Agregar metodologías como cuantificación de AGEs por vía renal o fecal podrían aportar mucho en temas de excreción fisiológica de estas moléculas y su acumulación en contextos patológicos. También realizar análisis de AGEs específicos y bien reportados en la literatura mundial mediante pruebas de química analítica más especializadas podría auxiliar en la obtención de datos más homogéneos y/o confiables para ahondar en el papel que estos desempeñan en la fisiopatología de complicaciones severas derivadas de contextos crónicos de hiperglucemia como es el caso de los individuos con DMT2.

XII. BIBLIOGRAFÍA

1. Enderica PFV, Mendoza YOG, Apolo KEM, Flores JJO. Diabetes Mellitus Tipo 2: incidencias, complicaciones y tratamientos actuales. *RECIMUNDO: Revista Científica de la Investigación y el Conocimiento*. 2019;3(1):26-37.
2. Macario Hernández EA. Programa de vigilancia nutricia sobre la sintomatología y calidad de vida en pacientes con diabetes mellitus y gastroparesia, del Hospital Zona Norte de Puebla 2022.
3. OMS. 2023 [Available from: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/diabetes>].
4. PAHO. 2023 [Available from: <https://www.paho.org/es/temas/diabetes>].
5. Fernández CIJ, Pereira YAM, Chang ASO, Olmedo SIG, Gaete MCA. Fisiopatología y alteraciones clínicas de la diabetes mellitus tipo 2: revisión de literatura. *Nova*. 2022;20(38):65-103.
6. COMUNICADO DE PRENSA NÚM. 657/22. DATOS NACIONALES DE DIABETES. [press release]. Noviembre 2022 2022.
7. Castro-Juárez CJ, Ramírez-García SA, Villa-Ruano N, García-Cruz D. Epidemiología genética sobre las teorías causales y la patogénesis de la diabetes mellitus tipo 2. *Gac Med Mex*. 2017;153(7):864-74.
8. Sepúlveda Villar N. Síntomas más frecuentes relacionados con enfermedades crónicas Hipertensión Arterial y Diabetes Mellitus en los pacientes que asisten a la consulta de medicina familiar y comunitaria del Hospital Regional Docente Juan Pablo Pina, Periodo Enero-Mayo 2020: Universidad Nacional Pedro Henríquez Ureña; 2020.
9. Fu Z, R Gilbert E, Liu D. Regulation of insulin synthesis and secretion and pancreatic Beta-cell dysfunction in diabetes. *Current diabetes reviews*. 2013;9(1):25-53.
10. Seino S, Shibasaki T, Minami K. Dynamics of insulin secretion and the clinical implications for obesity and diabetes. *The Journal of clinical investigation*. 2011;121(6):2118-25.
11. Cuiñas A, García-Morales V, Viña D, Gil-Longo J, Campos-Toimil M. Activation of PKA and Epac proteins by cyclic AMP depletes intracellular calcium stores and reduces calcium availability for vasoconstriction. *Life sciences*. 2016;155:102-9.
12. Galicia-Garcia U, Benito-Vicente A, Jebari S, Larrea-Sebal A, Siddiqi H, Uribe KB, et al. Pathophysiology of type 2 diabetes mellitus. *International journal of molecular sciences*. 2020;21(17):6275.
13. Christensen AA, Gannon M. The beta cell in type 2 diabetes. *Current diabetes reports*. 2019;19:1-8.
14. Halban PA, Polonsky KS, Bowden DW, Hawkins MA, Ling C, Mather KJ, et al. β -cell failure in type 2 diabetes: postulated mechanisms and prospects for prevention and treatment. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2014;99(6):1983-92.
15. Yamamoto WR, Bone RN, Sohn P, Syed F, Reissaus CA, Mosley AL, et al. Endoplasmic reticulum stress alters ryanodine receptor function in the murine pancreatic β cell. *Journal of Biological Chemistry*. 2019;294(1):168-81.
16. Czech MP. Insulin action and resistance in obesity and type 2 diabetes. *Nature medicine*. 2017;23(7):804-14.

17. Pearson T, Wattis JA, King JR, MacDonald IA, Mazzatti DJ. The effects of insulin resistance on individual tissues: an application of a mathematical model of metabolism in humans. *Bulletin of mathematical biology*. 2016;78:1189-217.
18. Wilcox G. Insulin and insulin resistance. *Clinical biochemist reviews*. 2005;26(2):19.
19. Ting DSW, Cheung GCM, Wong TY. Diabetic retinopathy: global prevalence, major risk factors, screening practices and public health challenges: a review. *Clinical & experimental ophthalmology*. 2016;44(4):260-77.
20. Michael Stumvoll HH. The peroxisome proliferator-activated receptor-gamma2 Pro12Ala polymorphism. *Diabetes*. 2002;51(8):2341-7.
21. Anna L Gloyn MNW, Katharine R Owen, Martina J Turner, Bridget A Knight, Graham Hitman, Mark Walker, Jonathan C Levy, Mike Sampson, Stephanie Halford, Mark I McCarthy, Andrew T Hattersley, Timothy M Frayling. Large-scale association studies of variants in genes encoding the pancreatic beta-cell KATP channel subunits Kir6.2 (KCNJ11) and SUR1 (ABCC8) confirm that the KCNJ11 E23K variant is associated with type 2 diabetes. *Diabetes*. 2003;52(2):568-72.
22. Yu Tong YL, Yuan Zhang, Jiyun Yang, Yawei Zhang, Hengchuan Liu, Ben Zhang. Association between TCF7L2 gene polymorphisms and susceptibility to type 2 diabetes mellitus: a large Human Genome Epidemiology (HuGE) review and meta-analysis. *BMC Med Genet*. 2009;10:10-5.
23. Amélie Bonnefond PF, Martine Vaxillaire. The emerging genetics of type 2 diabetes. *Trends Mol Med*. 2010;16(9):407-16.
24. Magliano DJ, Boyko EJ, Atlas ID. What is diabetes? IDF DIABETES ATLAS [Internet] 10th edition: International Diabetes Federation; 2021.
25. Gil-Velázquez LE, Sil-Acosta MJ, Domínguez-Sánchez ER, del Pilar Torres-Arreola L, Medina-Chávez JH. Guía de práctica clínica. Diagnóstico y tratamiento de la diabetes mellitus tipo 2. *Revista médica del instituto mexicano del seguro social*. 2013;51(1):1-16.
26. Gómez-Peralta F, Abreu C, Cos X, Gómez-Huelgas R. ¿ Cuándo empieza la diabetes? Detección e intervención tempranas en diabetes mellitus tipo 2. *Revista Clínica Española*. 2020;220(5):305-14.
27. Chawla R. *Complicaciones de la diabetes*: Santiago Auroch; 2013.
28. Sandholm N, Groop P-H. Genetic basis of diabetic kidney disease and other diabetic complications. *Current Opinion in Genetics & Development*. 2018;50:17-24.
29. Remington LA, Goodwin D. *Clinical Anatomy and Physiology of the Visual System E-Book*: Elsevier Health Sciences; 2021.
30. Villate MAM, Méndez JDB, Echeverry JEP. Anatomía quirúrgica del ojo: Revisión anatómica del ojo humano y comparación con el ojo porcino. *Morfología*. 2016;8(3):21-44.
31. Soler IOCD. Partes del ojo humano [Internet]. Alicante2025 [cited 2025 Enero]. Available from: <https://drsoler.com/problema-de-vision/el-ojo-humano>.
32. Boyd K. Retinopatía diabética: causas, síntomas, diagnóstico, tratamiento American Academy of Ophthalmology2022 [Available from: <https://www.aao.org/salud-ocular/enfermedades/retinopatia-diabetica>].
33. Miranda MR, López MR, Infante YP, Puertas IH, Carbajal DD. Caracterización epidemiológica y clínica de pacientes con retinopatía diabética. *Revista Cubana de Oftalmología*. 2021;34(1):1-16.

34. Salud Sd. Retinopatía diabética o ceguera irreversible por inadecuado control de la diabetes 2018 [Available from: <https://www.gob.mx/salud/documentos/retinopatia-diabetica-o-ceguera-irreversible-por-inadecuado-control-de-la-diabetes>].
35. Herrero Tudela M. Clasificación automática de la severidad de la retinopatía diabética mediante técnicas de Deep Learning. 2021.
36. Barría F, Martínez F. Guía práctica clínica de retinopatía diabética para Latinoamérica. Programa Visión. 2020;2011.
37. Romero-Aroca P, Sagarra Álamo R. La retinopatía diabética e hipertensiva. Revista COMCORDOBA. 2018;14(7):382-93.
38. Lanzetta P, Sarao V, Scanlon PH, Barratt J, Porta M, Bandello F, et al. Fundamental principles of an effective diabetic retinopathy screening program. Acta diabetologica. 2020;57:785-98.
39. Kuzan A. Toxicity of advanced glycation end products. Biomedical Reports. 2021;14(5):1-8.
40. Wu B, Yu L, Hu P, Lu Y, Li J, Wei Y, et al. GRP78 protects CHO cells from ribosylation. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research. 2018;1865(4):629-37.
41. Stinghen AE, Massy ZA, Vlassara H, Striker GE, Boullier A. Uremic toxicity of advanced glycation end products in CKD. Journal of the American Society of Nephrology. 2016;27(2):354-70.
42. Gill V, Kumar V, Singh K, Kumar A, Kim J-J. Advanced glycation end products (AGEs) may be a striking link between modern diet and health. Biomolecules. 2019;9(12):888.
43. Fishman SL, Sonmez H, Basman C, Singh V, Poretsky L. The role of advanced glycation end-products in the development of coronary artery disease in patients with and without diabetes mellitus: a review. Molecular Medicine. 2018;24:1-12.
44. Genuth S, Sun W, Cleary P, Gao X, Sell DR, Lachin J, et al. Skin advanced glycation end products glucosepane and methylglyoxal hydroimidazolone are independently associated with long-term microvascular complication progression of type 1 diabetes. Diabetes. 2015;64(1):266-78.
45. Nagaraj RH, Linetsky M, Stitt AW. The pathogenic role of Maillard reaction in the aging eye. Amino acids. 2012;42:1205-20.
46. Raghav A, Ahmad J, Alam K. Nonenzymatic glycosylation of human serum albumin and its effect on antibodies profile in patients with diabetes mellitus. PLoS One. 2017;12(5):e0176970.
47. Nowotny K, Jung T, Höhn A, Weber D, Grune T. Advanced glycation end products and oxidative stress in type 2 diabetes mellitus. Biomolecules. 2015;5(1):194-222.
48. Yamagishi S-i, Matsui T. Role of receptor for advanced glycation end products (RAGE) in liver disease. European journal of medical research. 2015;20(1):1-7.
49. Lee EJ, Park JH. Receptor for advanced glycation endproducts (RAGE), its ligands, and soluble RAGE: potential biomarkers for diagnosis and therapeutic targets for human renal diseases. Genomics & informatics. 2013;11(4):224.
50. Asadipooya K, Uy EM. Advanced Glycation End Products (AGEs), Receptor for AGEs, Diabetes, and Bone: Review of the Literature. Journal of the Endocrine Society. 2019;3(10):1799-818.

51. Xie J, Méndez JD, Méndez-Valenzuela V, Aguilar-Hernández MM. Cellular signalling of the receptor for advanced glycation end products (RAGE). *Cellular signalling*. 2013;25(11):2185-97.
52. Pasupulati AK, Chitra PS, Reddy GB. Advanced glycation end products mediated cellular and molecular events in the pathology of diabetic nephropathy. *Biomolecular Concepts*. 2016;7(5-6):293-309.
53. Senatus LM, Schmidt AM. The AGE-RAGE axis: implications for age-associated arterial diseases. *Frontiers in genetics*. 2017;8:187.
54. Sanajou D, Haghjo AG, Argani H, Aslani S. AGE-RAGE axis blockade in diabetic nephropathy: current status and future directions. *European journal of pharmacology*. 2018;833:158-64.
55. Van der Lugt T, Weseler AR, Gebbink WA, Vrolijk MF, Opperhuizen A, Bast A. Dietary advanced glycation endproducts induce an inflammatory response in human macrophages in vitro. *Nutrients*. 2018;10(12):1868.
56. AnandBabu K, Sen P, Angayarkanni N. Oxidized LDL, homocysteine, homocysteine thiolactone and advanced glycation end products act as pro-oxidant metabolites inducing cytokine release, macrophage infiltration and pro-angiogenic effect in ARPE-19 cells. *PLoS One*. 2019;14(5):e0216899.
57. Shen C-Y, Lu C-H, Wu C-H, Li K-J, Kuo Y-M, Hsieh S-C, et al. The development of maillard reaction, and advanced glycation end product (AGE)-receptor for AGE (RAGE) signaling inhibitors as novel therapeutic strategies for patients with AGE-related diseases. *Molecules*. 2020;25(23):5591.
58. Sugaya K, Fukagawa T, Matsumoto K-i, Mita K, Takahashi E-i, Ando A, et al. Three genes in the human MHC class III region near the junction with the class II: gene for receptor of advanced glycosylation end products, PBX2 homeobox gene and a notch homolog, human counterpart of mouse mammary tumor gene int-3. *Genomics*. 1994;23(2):408-19.
59. Kalea AZ, Schmidt AM, Hudson BI. RAGE: a novel biological and genetic marker for vascular disease. *Clinical Science*. 2009;116(8):621-37.
60. Institute NHGR. Polimorfismo 2023 [cited 2023 15 July]. Available from: <https://www.genome.gov/es/genetics-glossary/Polimorfismo#:~:text=Definici%C3%B3n,entre%20diferentes%20personas%20o%20poblaciones>.
61. Serveaux-Dancer M, Jabaudon M, Creveaux I, Belville C, Blondonnet R, Gross C, et al. Pathological implications of receptor for advanced glycation end-product (AGER) gene polymorphism. *Disease markers*. 2019;2019.
62. Chocholatý M, Jáchymová M, Schmidt M, Havlová K, Křepelová A, Zima T, et al. Polymorphisms of the receptor for advanced glycation end-products and glyoxalase I in patients with renal cancer. *Tumor Biology*. 2015;36:2121-6.
63. Ng ZX, Kuppusamy UR, Tajunisah I, Fong KCS, Chua KH. Association analysis of- 429T/C and- 374T/A polymorphisms of receptor of advanced glycation end products (RAGE) gene in Malaysian with type 2 diabetic retinopathy. *Diabetes Research and Clinical Practice*. 2012;95(3):372-7.
64. Yin N, Lang X, Wang X, Liu W. AGER genetic polymorphisms increase risks of breast and lung cancers. *Genet Mol Res*. 2015;14(4):17776-87.

65. Lu W, Feng B. The-374A allele of the RAGE gene as a potential protective factor for vascular complications in type 2 diabetes: a meta-analysis. *The Tohoku journal of experimental medicine*. 2010;220(4):291-7.
66. Torres M, Beltrame M, Santos I, Picheth G, Petzl-Erler M, Pedrosa F, et al. Polymorphisms of the promoter and exon 3 of the receptor for advanced glycation end products (RAGE) in Euro-and Afro-Brazilians. *International Journal of Immunogenetics*. 2012;39(2):155-60.
67. Beucher J, Boelle P-Y, Busson P-F, Muselet-Charlier C, Clement A, Corvol H. AGER-429T/C is associated with an increased lung disease severity in cystic fibrosis. 2012.
68. Maggioli E, Boiocchi C, Zorzetto M, Mannarino S, Bossi G, Cuccia M. HLA class III genes involvement in Kawasaki disease: a case-control study in a Caucasian population. *International Journal of Immunogenetics*. 2014;41(1):44-53.
69. Krechler T, Jáchymová M, Mestek O, Žák A, Zima T, Kalousová M. Soluble receptor for advanced glycation end-products (sRAGE) and polymorphisms of RAGE and glyoxalase I genes in patients with pancreas cancer. *Clinical biochemistry*. 2010;43(10-11):882-6.
70. Prasad P, Tiwari AK, Kumar KP, Ammini A, Gupta A, Gupta R, et al. Association analysis of ADPRT1, AKR1B1, RAGE, GFPT2 and PAI-1 gene polymorphisms with chronic renal insufficiency among Asian Indians with type-2 diabetes. *BMC medical genetics*. 2010;11:1-8.
71. Vazzana N, Santilli F, Cucurullo C, Davì G. Soluble forms of RAGE in internal medicine. *Internal and emergency medicine*. 2009;4:389-401.
72. Sullivan CM, Futers TS, Barrett JH, Hudson BI, Freeman MS, Grant PJ. RAGE polymorphisms and the heritability of insulin resistance: the Leeds family study. *Diabetes and Vascular Disease Research*. 2005;2(1):42-4.
73. Picheth G, Heidemann M, Pedrosa FO, Chautard-Freire-Maia EA, Costantini CO, da Rocha Martinez TL, et al. The-429 T> C polymorphism of the receptor for advanced glycation end products (RAGE) is associated with type 1 diabetes in a Brazilian population. *Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry*. 2007;383(1-2):163-4.
74. Santos I, Daga D, Frigeri H, Réa R, Almeida A, Souza E, et al. The functional polymorphisms-429 T> C and-374 T> A of the RAGE gene promoter are not associated with gestational diabetes in Euro-Brazilians. *Genetics and Molecular Research*. 2010;9(2):1130-5.
75. dos Santos KG, Canani LH, Gross JL, Tschiedel B, Souto KEP, Roisenberg I. The- 374A allele of the receptor for advanced glycation end products gene is associated with a decreased risk of ischemic heart disease in African-Brazilians with type 2 diabetes. *Molecular genetics and metabolism*. 2005;85(2):149-56.
76. Yuan D, Yuan D, Liu Q. Association of the receptor for advanced glycation end products gene polymorphisms with diabetic retinopathy in type 2 diabetes: a meta-analysis. *S. Karger AG Basel, Switzerland*; 2012. p. 223-32.
77. Yu W, Yang J, Sui W, Qu B, Huang P, Chen Y. Association of genetic variants in the receptor for advanced glycation end products gene with diabetic retinopathy: a meta-analysis. *Medicine*. 2016;95(39).

78. Kang P, Tian C, Jia C. Association of RAGE gene polymorphisms with type 2 diabetes mellitus, diabetic retinopathy and diabetic nephropathy. *Gene*. 2012;500(1):1-9.
79. Lu W, Feng B, Xie G, Liu F. Association of AGER gene G82S polymorphism with the severity of coronary artery disease in Chinese Han population. *Clinical endocrinology*. 2011;75(4):470-4.
80. Lindholm E, Bakhtadze E, Sjögren M, Cilio C, Agardh E, Groop L, et al. The-374 T/A polymorphism in the gene encoding RAGE is associated with diabetic nephropathy and retinopathy in type 1 diabetic patients. *Diabetologia*. 2006;49:2745-55.
81. Forbes J, Söderlund J, Yap F, Knip M, Andrikopoulos S, Ilonen J, et al. Receptor for advanced glycation end-products (RAGE) provides a link between genetic susceptibility and environmental factors in type 1 diabetes. *Diabetologia*. 2011;54:1032-42.
82. Balasubbu S, Sundaresan P, Rajendran A, Ramasamy K, Govindarajan G, Perumalsamy N, et al. Association analysis of nine candidate gene polymorphisms in Indian patients with type 2 diabetic retinopathy. *BMC medical genetics*. 2010;11:1-9.
83. Li J, Cai W, Zhang W, Zhu W-F, Liu Y, Yue L-X, et al. Polymorphism 2184A/G in the AGER gene is not associated with diabetic retinopathy in Han Chinese patients with type 2 diabetes. *Journal of International Medical Research*. 2016;44(3):520-8.
84. McVicar CM, Ward M, Colhoun LM, Guduric-Fuchs J, Bierhaus A, Fleming T, et al. Role of the receptor for advanced glycation endproducts (RAGE) in retinal vasodegenerative pathology during diabetes in mice. *Diabetologia*. 2015;58:1129-37.
85. Amin R, Indiarsih TB, Sari PM, Purwanita P. Anti-RAGE (receptor advanced glycation end products) antibody improves diabetic retinopathy in rats via hypoglycemic and anti-inflammatory mechanism. *Reports of Biochemistry & Molecular Biology*. 2022;11(3):394.
86. Hudson BI, Stickland MH, Futers TS, Grant PJ. Effects of novel polymorphisms in the RAGE gene on transcriptional regulation and their association with diabetic retinopathy. *Diabetes*. 2001;50(6):1505-11.
87. Shazia Qayyum MA, Abdul Khaliq Naveed. Association analysis of -429T/C receptor for advanced glycation end products (RAGE) gene polymorphism with type 2 diabetic retinopathy and serum soluble RAGE levels in Pakistani patients. *J Pak Med Assoc*. 2021;71(4):1175-80.
88. Qayyum S, Afzal M, Naveed AK. Association analysis of 374T/A (rs1800624) receptor for advanced glycation end-products (RAGE) gene polymorphism with diabetic retinopathy in Pakistani patients. *Pakistan Journal of Medical Sciences*. 2021;37(3):733.
89. Petrovič MG, Steblovník K, Peterlin B, Petrovič D. The-429 T/C and-374 T/A gene polymorphisms of the receptor of advanced glycation end products gene are not risk factors for diabetic retinopathy in Caucasians with type 2 diabetes. *Klinische Monatsblätter für Augenheilkunde*. 2003;220(12):873-6.
90. Jehanzeb M, Khan NU, Hussain M, Subrina J, Ayub S, Mustafa A. Association of candidate genes (ALR2, RAGE, and VEGF) polymorphisms with diabetic retinopathy in type 2 diabetic patients of Khyber Pakhtunkhwa, Pakistan. *Molecular Biology Reports*. 2023;50(1):227-34.

91. Ghanem AA, Elewa A, Arafa LF. Pentosidine and N-Carboxymethyl-Lysine: Biomarkers for Type 2 Diabetic Retinopathy. *European Journal of Ophthalmology*. 2011;21(1):48-54.
92. Kerkeni M, Saïdi A, Bouzidi H, Yahya SB, Hammami M. Elevated serum levels of AGEs, sRAGE, and pentosidine in Tunisian patients with severity of diabetic retinopathy. *Microvascular Research*. 2012;84(3):378-83.
93. Loho T, Venna V, Setiabudy RD, Sukartini N, Immanuel S, Kumalawati J, et al. Correlation between vitreous advanced glycation end products, and D-dimer with blood HbA1c levels in proliferative diabetic retinopathy. *Acta Med Indones*. 2018;50(2):132-7.
94. Suárez CMV, Benavides NJR, Sarmiento CJH, Ayala JAG. Obesidad: fisiopatología y tratamiento. Revisión de la literatura. *Médicas UIS*. 2023;36(3):89-104.
95. Fernández-Travieso JC. Incidencia actual de la obesidad en las enfermedades cardiovasculares. *Revista CENIC Ciencias Biológicas*. 2016;47(1):1-12.
96. Buraczynska M, Zakrocka I. Arginase Gene Polymorphism Increases Risk of Diabetic Retinopathy in Type 2 Diabetes Mellitus Patients. *Journal of Clinical Medicine*. 2021;10(22):5407.
97. Kaur N, Vanita V. Association analysis of PPAR γ (p. Pro12Ala) polymorphism with type 2 diabetic retinopathy in patients from north India. *Ophthalmic Genetics*. 2017;38(3):217-21.
98. Li Z, Ni C-L, Niu W-y, Chang B-c, Chen L-M. The intestinal fatty acid binding protein-2 Ala54Thr polymorphism is associated with diabetic retinopathy in Chinese population. *Diabetology & Metabolic Syndrome*. 2015;7:1-4.
99. Sesti LF, Crispim D, Canani LH, Polina ER, Rheinheimer J, Carvalho PS, et al. The- 308G> a polymorphism of the TNF gene is associated with proliferative diabetic retinopathy in Caucasian Brazilians with type 2 diabetes. *Investigative ophthalmology & visual science*. 2015;56(2):1184-90.
100. Drareni K, Ballaire R, Barilla S, Mathew MJ, Toubal A, Fan R, et al. GPS2 deficiency triggers maladaptive white adipose tissue expansion in obesity via HIF1A activation. *Cell reports*. 2018;24(11):2957-71. e6.
101. Kahn BB. Adipose tissue, inter-organ communication, and the path to type 2 diabetes: the 2016 banting medal for scientific achievement lecture. *Diabetes*. 2019;68(1):3-14.
102. Landecho MF, Tuero C, Valentí V, Bilbao I, de la Higuera M, Frühbeck G. Relevance of leptin and other adipokines in obesity-associated cardiovascular risk. *Nutrients*. 2019;11(11):2664.
103. Unamuno X, Izaguirre M, Gómez-Ambrosi J, Rodríguez A, Ramírez B, Becerril S, et al. Increase of the adiponectin/leptin ratio in patients with obesity and type 2 diabetes after Roux-en-Y gastric bypass. *Nutrients*. 2019;11(9):2069.
104. ADA. About Diabetes Diagnosis Internet: American Diabetes Association; 2024 [2024]. Available from: <https://diabetes.org/about-diabetes/diagnosis>.
105. Ng ZX, Kuppusamy UR, Tajunisah I, Fong KCS, Koay ACA, Chua KH. 2245G/A polymorphism of the receptor for advanced glycation end-products (RAGE) gene is associated with diabetic retinopathy in the Malaysian population. *British Journal of Ophthalmology*. 2012;96(2):289-92.
106. Alimam HYH, Hussein WA, Ibrahim S, Abdelgani S, Alharthi N, Eltayeb LB, et al. Blood Glucose, HbA1c Level, and its Correlation with VEGF-A (+ 405G/C)

- Polymorphism as Biomarker Predicts the Risk of Retinopathy and Nephropathy in Type 2 Diabetic Patients. *Reports of Biochemistry & Molecular Biology*. 2022;11(3):421.
107. Grbić E, Globočnik Petrovič M, Cilenšek I, Petrovič D. SLC22A3 rs2048327 Polymorphism Is Associated with Diabetic Retinopathy in Caucasians with Type 2 Diabetes Mellitus. *Biomedicines*. 2023;11(8):2303.
108. Ekberg NR, Eliasson S, Li YW, Zheng X, Chatzidionysiou K, Falhammar H, et al. Protective effect of the HIF-1A Pro582Ser polymorphism on severe diabetic retinopathy. *Journal of Diabetes Research*. 2019;2019(1):2936962.
109. Kolahdouz P, Farashahi Yazd E, Tajamolian M, Manaviat MR, Sheikha MH. The rs3917779 polymorphism of P-selectin's significant association with proliferative diabetic retinopathy in Yazd, Iran. *Graefe's Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology*. 2015;253:1967-72.
110. Lim LS, Wong TY. Lipids and diabetic retinopathy. *Expert opinion on biological therapy*. 2012;12(1):93-105.
111. Koya D, King GL. Protein kinase C activation and the development of diabetic complications. *Diabetes*. 1998;47(6):859-66.
112. Wang QJ. PKC at the crossroads of DAG and PKC signaling. *Trends in pharmacological sciences*. 2006;27(6):317-23.
113. Chang Y-C, Wu W-C. Dyslipidemia and diabetic retinopathy. *The review of diabetic studies: RDS*. 2013;10(2-3):121.
114. Ramprasad S, Radha V, Mathias R, Majumder P, Rao M, Rema M. Rage gene promoter polymorphisms and diabetic retinopathy in a clinic-based population from South India. *Eye*. 2007;21(3):395-401.
115. Lindholm E, Bakhtadze E, Cilio C, Agardh E, Groop L, Agardh C-D. Association between LTA, TNF and AGER polymorphisms and late diabetic complications. *PLoS one*. 2008;3(6):e2546.
116. JiXiong X, BiLin X, MingGong Y, ShuQin L. - 429T/C and- 374T/A polymorphisms of RAGE gene promoter are not associated with diabetic retinopathy in Chinese patients with type 2 diabetes. *Diabetes Care*. 2003;26(9):2696-7.
117. Erna R, Sastrawan D, Saleh MI. Effect of RAGE-429T/C and Gly82Ser Gene Polymorphism in Diabetic Retinopathy in General Hospital Mohammad Hoesin Palembang. *J Res Med Dent Sci*. 2017;5:19-23.
118. Jin H, Jiang D, Ding Z, Xiong Y, Zeng X, Liao M, et al. Association of four gene polymorphisms in Chinese Guangxi population with diabetic retinopathy in type 2 diabetic patients. *BMC ophthalmology*. 2021;21:1-7.
119. Fosmark DS, Torjesen PA, Kilhovd BK, Berg TJ, Sandvik L, Hanssen KF, et al. Increased serum levels of the specific advanced glycation end product methylglyoxal-derived hydroimidazolone are associated with retinopathy in patients with type 2 diabetes mellitus. *Metabolism*. 2006;55(2):232-6.
120. Kerkeni M, Saïdi A, Bouzidi H, Letaief A, Ben Yahia S, Hammami M. Pentosidine as a biomarker for microvascular complications in type 2 diabetic patients. *Diabetes and Vascular Disease Research*. 2013;10(3):239-45.
121. Perrone A, Giovino A, Benny J, Martinelli F. Advanced glycation end products (AGEs): biochemistry, signaling, analytical methods, and epigenetic effects. *Oxidative medicine and cellular longevity*. 2020;2020(1):3818196.
122. Hellwig M, Auerbach C, Müller N, Samuel P, Kammann S, Beer F, et al. Metabolization of the advanced glycation end product N-ε-carboxymethyllysine (CML)

by different probiotic *E. coli* strains. *Journal of agricultural and food chemistry*. 2019;67(7):1963-72.

123. Scheijen JL, Hanssen NM, van Greevenbroek MM, Van der Kallen CJ, Feskens EJ, Stehouwer CD, et al. Dietary intake of advanced glycation endproducts is associated with higher levels of advanced glycation endproducts in plasma and urine: the CODAM study. *Clinical nutrition*. 2018;37(3):919-25.

124. Delgado-Andrade C, Tessier FJ, Niquet-Leridon C, Seiquer I, Pilar Navarro M. Study of the urinary and faecal excretion of N ϵ -carboxymethyllysine in young human volunteers. *Amino acids*. 2012;43:595-602.

125. Grossin N, Wautier M-P, Meas T, Guillausseau P-J, Massin P, Wautier J-L. Severity of diabetic microvascular complications is associated with a low soluble RAGE level. *Diabetes & metabolism*. 2008;34(4):392-5.

126. Ng ZX, Chua KH, Iqbal T, Kuppusamy UR. Soluble receptor for advanced glycation end-product (sRAGE)/pentosidine ratio: a potential risk factor determinant for type 2 diabetic retinopathy. *International journal of molecular sciences*. 2013;14(4):7480-91.

127. Tousseyn T, Jorissen E, Reiss K, Hartmann D. (Make) stick and cut loose—disintegrin metalloproteases in development and disease. *Birth Defects Research Part C: Embryo Today: Reviews*. 2006;78(1):24-46.

128. Endres K, Fahrenholz F. The role of the anti-amyloidogenic secretase ADAM10 in shedding the APP-like proteins. *Current Alzheimer Research*. 2012;9(2):157-64.

129. Saftig P, Reiss K. The “A Disintegrin And Metalloproteases” ADAM10 and ADAM17: novel drug targets with therapeutic potential? *European journal of cell biology*. 2011;90(6-7):527-35.

XIII. SIGLAS Y ABREVIACIONES

AAO: American Academy of Ophthalmology.

ADAM17: Adamalisina 17 (metaloproteasa).

ADN: Ácido desoxirribonucleico.

ADP: adenosín difosfato.

AGEs: Advanced glycation end products (productos finales de glicación avanzada).

AGL: Ácidos grasos libres.

AIC: Índice de información de Akaike.

AKT: Proteína quinasa B.

AMPc: Adenosín monofosfato cíclico.

ARNm: Ácido ribonucleico mensajero.

ATP: Adenosín trifosfato.

BHR: Barrera hematorretiniana.

CML: Carboximetil-lisina.

DM: Diabetes mellitus.

DM1: Diabetes mellitus tipo 1.

DMT2: Diabetes mellitus tipo 2.

ELISA: Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay (ensayo por inmunoadsorción ligado a enzimas).

EMD: Edema macular diabético.

ENT: Enfermedad no transmisible.

esRAGE: AGER secretor endógeno.

GH: Hormona del crecimiento.

GLUT-2: Transportador de glucosa 2.

gp130: Glucoproteína 130.

HbA1c: Hemogloblina glicosilada.

HGNC: HUGO Gene Nomenclature Committee.

HPLC: Cromatografía líquida de alta resolución.

ICAM: Molécula de adhesión intercelular.

IGF-1: Factor de crecimiento similar a la insulina 1.

IL: Interleuquina (o interleucina).

IL-6: Interleuquina 6.

IL-6R: Receptor asociado a membrana para IL-6.

IMSS: Instituto Mexicano del Seguro Social.

IRMA: Intraretinal microvascular anormality.

IRSS: Sustratos del receptor de insulina.

ISRE: Elemento de respuesta sensible a interferón.

kDa: Kilodalton.

MAPK: Proteínas quinasa activadas por mitógenos.

MG: metilglioxal.

MHC III: Complejo principal (o mayor) de histocompatibilidad III.

mTOR: Mammalian target of rapamycin (diana de rapamicina en células de mamífero).

NF- κ B: Factor nuclear κ B.

OMS: Organización Mundial de la Salud.

OR: odds ratio.

P13K: Fosfatidilinositol 3 quinasa.

P2X: Receptor purinérgico.

P2Y: Receptor purigérgico

PCR: Reacción en cadena de polimerasa.

PKC α : Proteína Quinasa C Alpha.

q-PCR: PCR en tiempo real o cuantitativa.

AGER: Receptor de productos finales de glicación avanzada.

RD: Retinopatía diabética.

RDNP: Retinopatía no proliferativa.

RDP: Retinopatía diabética proliferativa.

RE: Retículo endoplasmático.

RI: Resistencia a la insulina.

RNI: Reactivos intermediarios del nitrógeno.

RNS: Especies reactivas de nitrógeno.

ROS: Especies reactivas de oxígeno.

RPEC: Célula epitelial pigmentada de la retina

sIL6R: Receptor de IL-6 soluble.

SNP: Single nucleotide polymorphism (polimorfismo de un solo nucleótido).

sRAGE: Receptor para productos finales de glicación avanzada soluble.

TNF α : Factor de necrosis tumoral α .

UPR: Unfolded protein response (respuesta a proteínas desplegadas).

UTR: Untranslated region (region no traducida).

VEFG: Factor de crecimiento del endotelio vascular.

WT: Wild type (tipo salvaje).

XIV. ANEXOS

11.1. Documentos complementarios

Anexo 1. Carta de Consentimiento Informado

   
CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA: Uso de información personal y clínica, medición antropométrica toma de muestra de sangre
Estimado(a) Señor/Señora: _____ No registro: _____
Introducción/Objetivo: El "Laboratorio de diabetes y comorbilidades" del "Centro de Investigación Aplicada a la Salud Pública (CIASAP) de la Facultad de Medicina perteneciente a la Universidad Autónoma de Sinaloa, y el Instituto de Seguro y Servicios Sociales de Trabajadores del Estado (ISSSTE) realiza el proyecto: "Perfil molecular y variantes genéticas del estado de inflamación asociadas al desarrollo de complicaciones microvasculares en el contexto de DMT2: Búsqueda de biomarcadores de inicio y progresión". El objetivo del estudio es examinar las características genéticas de población diabética DMT2 (polimorfismos, niveles séricos de lípidos y glucosa) y su relación con indicadores de riesgo de complicaciones microvasculares.
Procedimientos: Si usted acepta participar en el estudio, ocurrirá lo siguiente:
<ul style="list-style-type: none">• Proporcionará información personal y clínica, a través de una encuesta. La encuesta consistirá de las siguientes secciones: datos generales, antropometría (resultados de evaluación), química sanguínea (resultados del análisis de una muestra de sangre), actividad física, consumo de tabaco, consumo de alcohol, nivel socioeconómico, antecedentes patológicos y antecedentes heredo- familiares.• Se le realizarán mediciones antropométricas con un estadiómetro (talla), cinta métrica (circunferencias de cintura y cadera) y equipo de impedancia eléctrica (para medir peso, %grasa, %agua corporal, masa muscular, complexión física, masa ósea, edad metabólica, Índice de Masa Corporal, % grasa y masa muscular de brazos, piernas y tronco); procedimientos que no comprometen su estado de salud y que ayudarán a entender mejor su estado antropométrico con fines de investigación.• Proporcionarán una muestra de sangre periférica (15 mL), distribuida en dos tubos (uno para obtener suero y otro tubo para obtener un paquete celular para obtención de ADN genómico y plasma). Dichas muestras serán utilizadas solo con fines de investigación para formar un banco de sueros/plasma y ADN genómico de pacientes; el cual será utilizado para determinar niveles séricos de glucosa, lípidos y el perfil molecular. Así mismo, el banco antes mencionado será utilizado en este proyecto de investigación, realizado en el "Laboratorio de Diabetes y Comorbilidades del Centro de Investigación Aplicada a la Salud Pública (CIASAP) de la Facultad de Medicina y el Instituto de Seguro y Servicios Sociales de Trabajadores del Estado (ISSSTE)". El banco será almacenado en el laboratorio "Laboratorio de Diabetes y Comorbilidades". Esto no representa un riesgo adicional para su salud. En el futuro, este estudio podría ayudar a identificar posibles terapias de intervención para prevenir o mejorar la calidad de vida de pacientes diabéticos.
1



Beneficios: Con su participación en esta investigación se le proporcionarán resultados del análisis antropométrico y de química sanguínea. Así mismo, contribuirá con los investigadores responsables en la generación de conocimiento en la búsqueda de biomarcadores para el pronóstico, diagnóstico y posible tratamiento de las patologías antes mencionadas.

Confidencialidad: Toda la información que proporcione para el estudio será de carácter estrictamente confidencial, será utilizada únicamente por el equipo de investigación del proyecto y no estará disponible para ningún otro propósito. Quedará identificado(a) con un número y no con su nombre. Los resultados de este estudio serán publicados con fines científicos, pero se presentarán de tal manera que no podrá ser identificado(a).

Riesgos Potenciales/Compensación: Los riesgos potenciales que implican su participación en este estudio son mínimos. Si alguna de las preguntas le hiciera sentir un poco incómodo(a), tiene el derecho de no responderla. En la toma de muestra de sangre, puede haber un riesgo mínimo como un pequeño moretón y/o pequeño dolor en el momento de la toma. Se le hace notificar que el material que se utilizará es nuevo y desechable. Usted no recibirá ningún pago por participar en el estudio, y tampoco implicará algún costo para usted.

Participación Voluntaria/Retiro: La participación en este estudio es absolutamente voluntaria. Usted está en plena libertad de negarse a participar o de retirar su participación del mismo en cualquier momento. Su decisión de participar o de no participar no afectará de ninguna manera la forma en cómo le tratan al acudir a su atención médica.

Números a Contactar: Si usted tiene alguna pregunta, comentario o preocupación con respecto al proyecto, por favor comuníquese con el/la investigador/a responsable del proyecto: "Dra. Alma Marlene Guadrón Llanos", al siguiente número de teléfono "6677 188 8145". Si usted acepta participar en el estudio, le pedimos sea tan amable de firmar el consentimiento informado.

CONSENTIMIENTO PARA SU PARTICIPACIÓN EN EL ESTUDIO

Su firma indica su aceptación para participar voluntariamente en el presente estudio.

Nombre del participante:

No. Registro: _____ Fecha: ___/___/___ Firma*: _____
*En caso de incapacidad para firmar, firma del tutor o familiar.
Nombre Completo del Testigo:

Dirección _____
Fecha: ___/___/___ Relación con el participante _____ Firma: _____
Nombre de la persona que obtiene el consentimiento:

Fecha: ___/___/___ Relación con el participante _____ Firma: _____